



PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

No.67

2008 年 1 月

THE JAPANESE PEPTIDE SOCIETY

<http://peptide-soc.jp>

会長の挨拶 —日本ペプチド学会の会員、 特に若手会員の皆様へ—

地球が誕生したのは46億年前といわれています。太古の大陸は現在とはまったく違います。その時代にはアミノ酸・ペプチド・タンパク質も存在しません。地球誕生から数億年で、現在のウイルスや動物、植物、ヒトが使っている生物分子が現れました。分子の進化という観点からみると、タンパク質・核酸のような高度な生物分子が非常に早くにできたと考えられています。

地球上の生命システムの基本の生物分子は、遺伝子でコードされている20個のL-アルファアミノ酸であり、それがペプチド結合でつながった生物活性ペプチドであり、さらに高分子の酵素やレセプターなどの機能性タンパク質であります。DNAやRNAの核酸は、これらの遺伝情報を蓄積したり伝えたりするものであります。

このようなアミノ酸の情報を保持しているDNAやRNAという核酸が、地球誕生から数億年で現れたことは非常に驚くべきことです。その物質が現在も使われているのには意味があります。私は、タンパク質が進化の最終物質ではないかと考えています。

というのは、アミノ酸をつないでいるペプチド結合は比較的安定で、水素結合をつくることもできます。それによって様々な構造もとることができ、また側鎖の官能基によって機能を発揮できるようになります。ウイルスの様にヒトとは比べようがない位簡単に単なる有機化合物の集合体で無生物に近いようなものでも複雑な酵素タンパク質を使っています。

当然、サルも同じ様な生物分子を使っています。又、サルは薬を使っているといわれています。霊長類は病気の状態で、通常とは異なる植物(薬草)を食べます。ヒトはもちろんのこと古くから薬を使っており、四大文明発祥の地を初めとする各地の文献に薬が記載されて残っています。

現在は、ポストゲノム時代です。ゲノム塩基配列を決定することによって遺伝子の塩基配列を推測し、タンパク質のアミノ酸配列の推測、それからさらに、機能タンパク質や酵素の発見、受容体の発見などを経て、最後に医薬品の発見・開発につながっていきます。



木曾 良明

す。この様に、地球上の生命システムの基本はアミノ酸がペプチド結合でつながったペプチド・タンパク質と核酸であり、また、多数のペプチドおよび関連化合物が医薬品としてすでに世の中に貢献し、さらには現在急速に開発が進められています。

この様なことから、日本ペプチド学会は国際的にペプチド科学研究の発展を進めると同時に、国内外におけるペプチド関連科学に関するシンポジウムの主催と支援、若手ペプチド研究者への支援、研究者間での共同研究の推進、ペプチドの一般社会への啓蒙など大きな役割を担っていると考えています。現在約400名の会員を擁していますが、さらにペプチドを対象とした関連する科学分野の研究者への拡大の努力をする必要があると思います。日本ペプチド学会は研究者奨励のため、日本ペプチド学会賞および奨励賞を設けており、毎年のペプチドシンポジウムでは若手研究者にポスター賞を贈って意欲付けを行っています。さらに、Rao Makineni 博士の寄付をいただいてこれをもとに、赤堀 四郎 先生の名を冠した“Akabori Memorial Award”を創設し、国際的にペプチド研究に貢献した研究者に授与しています。また、毎年ペプチドフォーラム、市民フォーラムを開催してペプチドを一般に分かりやすく解説する努力をしており、この様な活動によりペプチド科学の正確な知識の普及を目指しています。

現在ペプチド科学研究は広範囲へ広がり、酵素の基質ペプチド、生理活性ペプチドの化学から出発して、生命科学の基本となっており、又、レセプター研究に基づくペプチド関連医薬品ならびに非ペプチド薬の開発、さらにはペプチドワクチン、コンビケム、プロテオーム研究、ペプチドーム研究の様な応用科学へと、発展しています。この様に魅力的なペプチド科学を、前に述べたフォーラムやシンポジウムの開催などの活動によって、若い人たちがその重要性を理解して意欲を持ってペプチド科学研究を目指すことを大いに期待しています。

通信、交通手段の発達により世界はグローバル化しており、アメリカペプチド学会、ヨーロッパペプチド学会をはじめとして、日本はもとより、オーストラリア、韓国、中国、インドなど世界中の各地のペプチド研究者集団との国際交流も盛んに行われて、世界のペプチド科学研究者が研究のレベルアップをめざしています。また、国際リエゾンコミティーを開催して各国のペプチド学会の代表者が集まって討議する機会が設けられお互いの連携を図る努力を行っています。

この様なグローバル化時代にあって、若手ペプチド

研究者向けの活動としては、毎年夏に開催される若手ペプチド夏の勉強会の支援、海外のペプチド関係学会参加者を支援するトラベルアワードが挙げられます。また、毎年ペプチドシンポジウムで授与されるポスター賞も対象は若い研究者です。このような支援活動により、若い研究者がペプチド研究に対するモチベーションを高め、また、国内外の様々な研究者と交流して切磋琢磨することにより研究者としての資質を高めていくことが期待されています。

ペプチド科学をはじめとする科学研究においては、高度に科学技術が発展した現在、一個人や一研究室だけの研究には限界があり、広く外に出て、交流、討論、そして共同研究により研究の発展を図ることが求められています。そのためには、研究内容のみならず、語学や人間関係すなわちコミュニケーションのスキルも大変重要なファクターになってきています。自分はコミュニケーションが苦手という若者もいるかもしれませんが、研究の発展、それにより社会に貢献するという大きな目標を持っておれば、苦手意識を克服することも困難ではないと考えます。

きそ よしあき
京都薬科大学
創薬科学フロンティア研究センター
kiso@mb.kyoto-phu.ac.jp

平成19年度日本ペプチド学会賞を受賞して

このたび、筆者の「蛋白質合成法に関する研究」が日本ペプチド学会賞受賞の栄誉を受け、大変光栄に思いますとともに、筆者らの研究に対し30年間にわたり発表の機会を与えて下さいました日本ペプチド学会に対し、深く感謝いたします。現役としての残り時間がだんだん少なくなってきましたが、これを機に今後とも蛋白質化学の研究と教育に一層専念したいと考えております。



相本 三郎

さて、筆者のペプチド研究は、大阪大学理学部化学科4年生の研究室配属で、大阪大学たんぱく質研究所附属ペプチドセンターの榊原俊平先生の研究室を希望したところから始まります。修士課程では、1年目に固相ペプチド合成法に用いられるクロロメチル化樹脂(メリフィールド樹脂)中のクロロメチル基の量とペプチドの合成成績の関係を調べ、2年目は最適と思われるクロロメチル基が導入された樹脂を用いてPro(Br)-Pro-Gly-(Pro-Pro-Gly)₉の合成と結晶化を行いました。修士在学中に榊原先生は大学を退職され、財団法人蛋白質研究奨励会に研究拠点を移されましたが、修士課程修了まで終始暖かく指導して下さいました。後任として下西康嗣先生がペプチドセンターに赴任して来られ、筆者は博士課程を5ヶ月で退学して助手となりました。千里地区に移転した直後の蛋白研で下西先生の下で、天然卵白リゾチームを用いた蛋白質全合成のシミュレーション実験を開始しました。ペプ

チド合成に用いられている保護基をそのまま使用して蛋白質の全合成は可能か、保護基の断片の発生を伴う無水フッ化水素処理により蛋白質はどれくらい損傷を受けるか、またそれを回避あるいは軽減することが可能か否かについて検討を行いました¹⁾。

学位取得後、New York州BuffaloにあるRoswell Park Memorial InstituteのG. Kartha博士とJ. Bello博士の研究グループに参加しました。そこで、環状ペプチドとカルシウムやマグネシウムイオンの形成する錯体の結晶構造解析の研究に従事しました²⁾。Buffalo滞在中、Georgetown大学で開催された第6回American Peptide Symposiumに参加したことが今でも懐かしく思い出されます。予定していた研究が早期に終了しましたので、2年目はYale大学のDepartment of Molecular Biophysics & BiochemistryのF. Richards教授の研究室に移りました。F. Richards教授、T. Steitz教授、D. Engelman教授らの主催するWERMSセミナーグループの熱気に圧倒されながら1年を過ごすことができました。筆者は赤血球ゴーストの膜裏打ち構造に関わる蛋白質の空間配置の有機化学的手法に基づく解析を行いました³⁾。

帰国後しばらくして蛋白質研究所の改組があり、蛋白質工学基礎研究センターが発足し、そこで助教授として蛋白質工学を念頭に置いた蛋白質合成化学を展開することになりました。当時、関連分野の発展に寄与できるような簡便な長鎖ペプチド合成法は存在していなかったにもかかわらず、「ペプチド合成でまだやることあるの？」などと言われ、また周囲ではペプチド化学を研究しているグループがどんどん少なくなっていく中での研究室の立ち上げでした。液相法での蛋白質合成の大変なことは矢島先生らのお仕事を見ていて痛感していましたし、固相法で合成できるペプチドの限界も次第に明らかになってきていました。そこで、修士課程の学生が、分子量1~2万の蛋白質を一年で合成できる方法を開発することを目標とし、研究に取りかかりました。

方法論の開発

30~50残基のペプチドであれば固相法で合成できます。もし、固相法で調製したペプチド断片を何らかの方法で縮合することができれば、2, 3回の縮合反応で小型の蛋白質なら合成できるはずだと考え、まず固相法と液相法を組み合わせた蛋白質合成法の検討を始めました。最初に開発した方法は、部分保護ペプチドの調製が煩雑であることや、ペプチドのHPLC溶離液に対する溶解性が低いことなど、目的としたBPTIの合成には成功したものの、多くの問題点をもっていました⁴⁾(図1)。しかし、この研究のお陰で、何をすれば長鎖ペプチドの合成が可能となるのかというイメージを作ることができました。すなわち、側鎖のカルボキシ基に保護基を必要としない方法、つまり主鎖のカルボキシ基を選択的に活性化できれば容易に保護ペプチドを調製できるし、溶解性も改善されて精製に伴う問題も克服できるはずだ、という結論に達しました。J. Blakeらは正に側鎖のカルボキシ基を無保護のまま蛋白質を合成する方法、Thiocarboxy segment condensation法を開発していました^{5,6)}。しかし、彼らのグ

ループはすでに解散し、その方法を引き継いで研究している者もいなくなっていました。彼らの方法を検討した結果、チオカルボキシル基をチオエステル基に変え、ペプチドチオエステルを合成ブロックとすれば、彼らの方法に含まれている欠点の多くを取り除くことができ、効率のよい長鎖ペプチド合成法が開発できるのではないかと考えました。そこで、固相法によるペプチドチオエステル合成法の検討を開始しました。幾通りかのペプチドチオエステルの合成ルートを検討しましたが、それでも20残基程度のペプチドチオエステルの単離収率はひいき目に見ても1%程度でした。しかし、わずかに得られたペプチドチオエステルにBoc基を導入し、硝酸銀存在下で縮合を試みましたが、20残基のペプチドチオエステルと30残基のペプチドの縮合が副反応も伴わずに進行することが分かりました。ペプチドチオエステルを合成ブロックとして用いる合成法は、蛋白質合成法としてきわめて有望であるとの確信を得ることができました⁷⁾(図2)。

チオエステル調製用樹脂に関する研究

ペプチドチオエステルが優れた合成ブロックであることは分かりましたが、固相法での合成収率が実用に耐えないほど低いため、その原因を究明することにしました。北條裕信君(現東海大学教授)の努力の結果、Boc基除去のためのTFA処理の際に、チオエステルを構成するイオウ原子の関与する隣接基効果により、ペプチドの樹脂からの脱離が加速されていることが明らかとなりました。これを踏まえて、チオエステル部位を樹脂から遠ざけるために樹脂とチオエステル

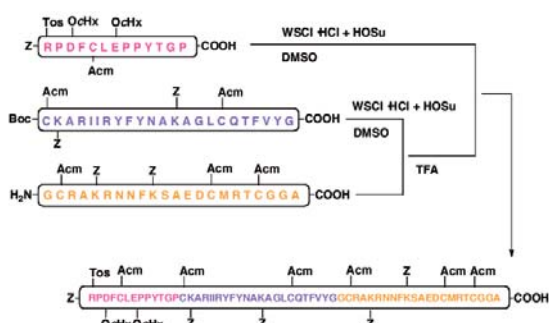


図1 BPTIを合成ターゲットとした固相法と液相法を組み合わせた長鎖ペプチド合成法開発の試み

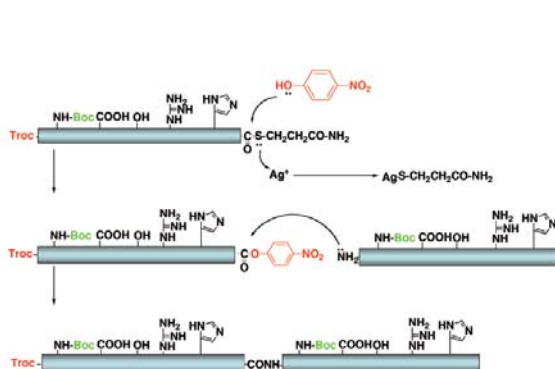


図2 初期のチオエステル法

部位の間に1残基アミノ酸を挿入したところ、予想通り実用レベルの収率でペプチドチオエステルの調製ができるようになりました⁸⁾(図3)。

システイン含有ペプチドの合成法に関する研究

しかし、ペプチドチオエステルを合成ブロックとして用いても、システイン含有蛋白質の合成が困難であることに変わりはありませんでした。そこで、Cys(Acm)中のイオウ原子とチオエステル結合に含まれるイオウ原子に対する銀化合物の配位力の差に着目し、チオエステルの活性化剤を検討してみました。その結果、AgCl/HOOBtあるいはHOBtの組み合わせを用いると、縮合反応は順調に進行し、しかもAcm基は全く分解しないことが分かりました⁹⁾。その結果、チオエステル法でシステイン含有蛋白質を合成することができるようになりました。これでチオエステル法による単純蛋白質の一般的化学合成法をほぼ完成させることができました(図4)。

ハイブリッド型蛋白質調製法の開発

Native chemical ligation法では発現蛋白質を合成ブロックとして利用できます。これは安定同位体標識した発現蛋白質を合成ブロックとすることができるといって、この方法の極めて優れた特徴です。そこで、チオエステル法でも発現蛋白質を合成ブロックへと誘導するための検討を行いました。合成ブロックとするためには、 α 位のアミノ基が遊離で、側鎖のアミノ基とチオール基に保護基が導入されたペプチドを発現

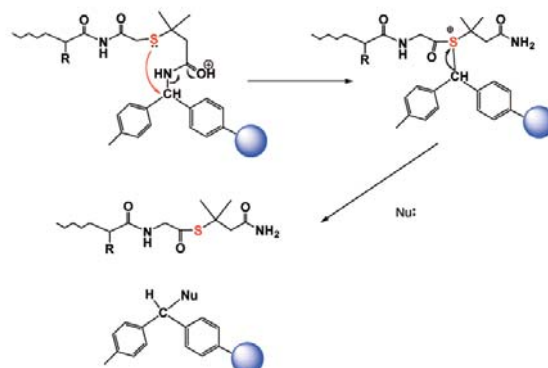


図3 チオエステル中のイオウ原子の隣接基効果によるペプチドの樹脂からの脱落反応の推定経路

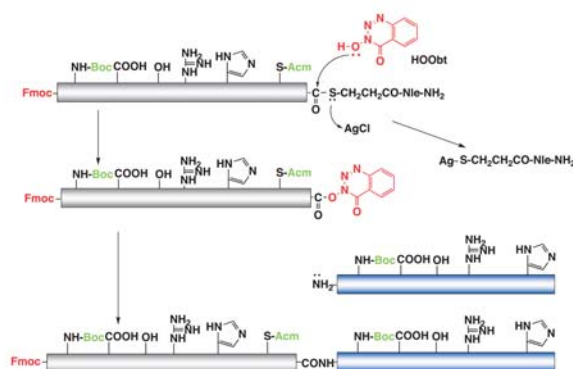


図4 現在のチオエステル法

白質から調製する必要があります。2000年に名古屋で開催された赤堀コンファレンスで、当時武田薬品におられた西村紀先生が、発現蛋白質のN末端に付加しているMet残基を除去する方法を発表されました¹⁰⁾。これがきっかけで、Dixonらの開発したN末端アミノ酸の除去法を知り、側鎖のアミノ基だけに保護基が導入された合成ブロックを発現蛋白質から調製するルートを開発することに成功しました(図5)。化学合成されたN末端側合成ブロックのリン酸化ペプチドチオエステルと、開発した方法を用いて発現蛋白質から調製された¹⁵Nで均一標識されたC末端側合成ブロックを縮合させ、セグメント特異的に標識されたリン酸化P 21 Max(1-101)を得ることに成功しました¹¹⁾。また、N末端にセリンをもつ無保護のペプチドを過ヨウ素酸処理し、N末端に生成したアルデヒド基とチオエステルを選択的に縮合させる方法も開発しました¹²⁾。

Fmoc法を用いるペプチドチオエステル調製法の開発

先に述べましたように、Boc固相法を用いればペプチドチオエステルを効率よく調製できます。しかし、現在では標準的ペプチド合成法はFmoc法であり、しかもリン酸化ペプチドやグリコシル化ペプチドは、一般的にBoc法よりもFmoc法の方が成績よく合成できます。そこで、Fmoc法によるペプチドチオエステルの合成を目的とし研究を行いました。その結果、低求核性塩基を用いることによりFmoc法でペプチドチオエステルを合成することに成功したが、チオエステルに隣接するアミノ酸残基のラセミ化を防ぐことができませんでした^{13,14)}。

2002年大連で開催された第7回 Chinese International Peptide Symposiumで、Bachem HoldingsのT. Vorherr博士が講演の中で面白いことを言いました。私たちが開発したライゲーション用補助基¹²⁾の除去条件の最適化を検討しているとき、弱酸性条件下で補助基の付いているペプチドを放置しておくでHPLC上で新しいピークが現れる。そのピークは中性条件下に置いておくと元のピークに戻る。質量値は変化しない、というものでした¹⁵⁾。これだと思いました。補助基中のチオール基が関与してN-Sアシル基転位反応が起

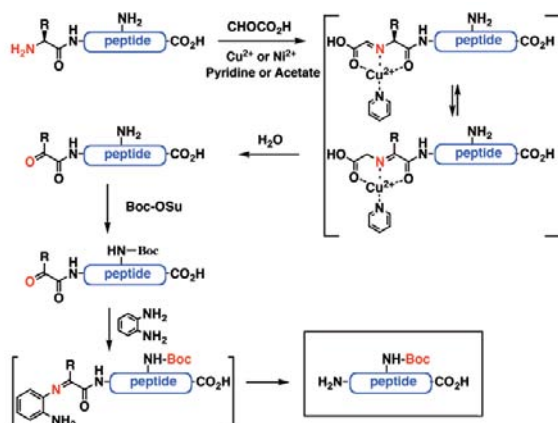


図5 Dixonの方法を用いる発現蛋白質側鎖への選択的Boc基導入経路

こっていることを中村健一郎君が確認してくれました(図6)。これをきっかけとしてFmoc法でペプチド鎖を伸長させたのち、補助基の結合したアミド結合をチオエステル結合に効率よく変換する方法を開発することに成功しました^{16,17)}。

この方法では、ピペリジン処理がくり返されるペプチド鎖の伸長時はアミド結合で存在し、伸長反応完了後にチオエステルに変換するため、ラセミ化を効率よく防ぐことができます。さらに、川上徹君の努力で、Cys-ProエステルをペプチドのC末端に導入しておくで自発的にペプチドチオエステルとなるという方法¹⁸⁾が開発されました(図7)。その発展が期待されています。

合成ペプチド・蛋白質を用いた研究

合成法を開発する傍ら、佐藤毅君を中心に膜蛋白質の合成を進めてきました。性質がはなはだ悪い膜貫通

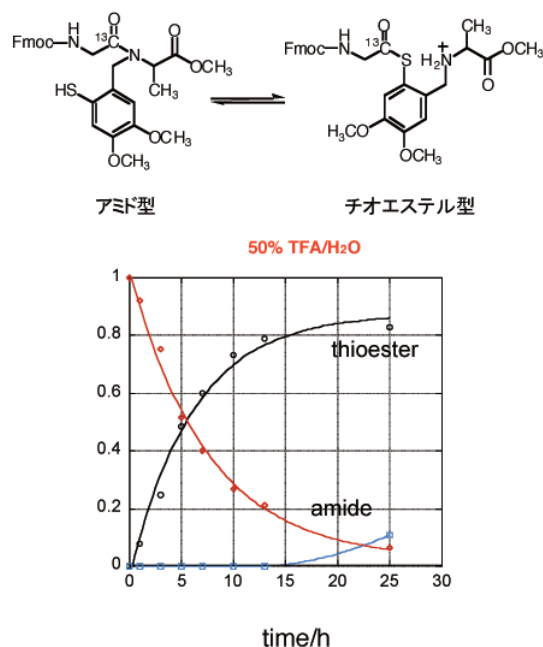


図6 補助基を結合したペプチド結合のチオエステルへの変換

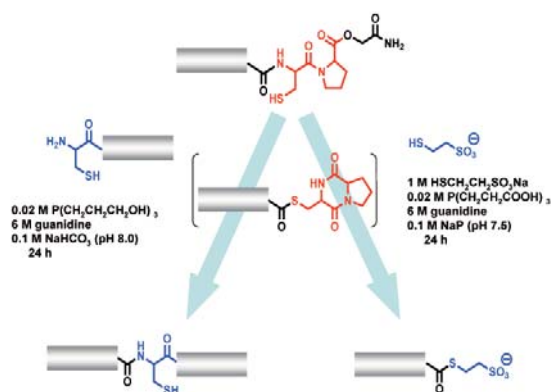


図7 Cys-ProエステルをC末端にもつペプチドを用いるペプチド鎖の縮合あるいはペプチドチオエステルの調製

ドメインに振り回されて、筆者らにとって、未だに2回膜貫通型蛋白質が合成できる限界^{19,20)}ですが、この研究を通して新しい幾つかの研究テーマが育ってきています。一つは原利明君のがんばりで、つかみ所のなかった難溶性ペプチドの精製という課題にかすかに解決の道筋が見えてきました。また、合成膜蛋白質と固体NMRを組み合わせたS. Smith教授(SUNY, Stony Brook)との20年近くに及ぶ共同研究を基に、Smith-佐藤を中心としたチームで膜貫通部位とその近傍に焦点を当てた研究が収穫期を迎えようとしています。

私に残されている時間はあと3年ですが、ペプチド科学の将来に明るい展望を提示しつつ次の世代へ橋渡しができればと思っています。

マッチの灯り頼りに夜道を歩いていこうような研究生を送ってきましたが、幸運なことに、頭の中でイメージを膨らませつつ2~3年経つと、いつも誰かの「あれ!」というような発表に出くわしてきました。お陰で研究所から追い出されもせず、干上がることもなく今日まで研究を続けることができました。今日の受賞があるのは、榊原先生ならびに下西先生の薫陶と共に、先輩や同僚教授の方々の寛容、ペプチド学会会員の皆様の温かい激励、京極好正先生を始めとする構造生物学関係の方からの身に余る支援のお陰と心から感謝しております。また、口の悪い小生のもとで、献身的に研究を実施していただいた赤路健一君(現京都府立医科大学教授)をはじめスタッフの皆様、卒業生や在校生の諸君、また研究室を支えていただいた歴代秘書の皆様すべてに心からお礼を申し上げます。

参考文献

- 1) S. Aimoto, Y. Shimonishi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 205-213 (1978)
- 2) G. Kartha, K. I. Varughese, S. Aimoto, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 4519-4522 (1982)
- 3) S. Aimoto, F. M. Richards, *J. Biol. Chem.*, **256**, 5134-5143 (1981)
- 4) S. Aimoto, N. Mizoguchi, H. Hojo, S. Yoshimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 524-531 (1989)
- 5) J. Blake, C. H. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 4055-4058 (1981)
- 6) Yamashiro, D., Li, C. H.: *Int. J. Peptide Protein Res.*, **31**, 322-334 (1988)
- 7) H. Hojo, S. Aimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **64**, 111-117 (1991)
- 8) H. Hojo, Y. Kwon, Y. Kakuta, S. Tsuda, I. Tanaka, K. Hikichi, S. Aimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 2700-2706 (1993).
- 9) T. Kawakami, S. Aimoto, *Chem. Lett.*, 1157-1158 (1997)
- 10) M. Suenaga, H. Ohmae, N. Okutani, T. Kurokawa, T. Asano, T. Yamada, O. Nishimura, M. Fujino, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.*, 3727-3733 (1999)
- 11) T. Kawakami, K. Hasegawa, K. Teruya, K. Akaji, M. Horiuchi, F. Inagaki, Y. Kurihara, S. Uesugi, S. Aimoto, *J. Peptide Science*, **7**, 474-487 (2001)
- 12) T. Kawakami, K. Akaji, S. Aimoto, *Org. Lett.*, **3**, 1403-

1405 (2001)

- 13) X. Li, T. Kawakami, S. Aimoto, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 8669-8672 (1998)
- 14) K. Hasegawa, Y. L. Sha, J. K. Bang, T. Kawakami, K. Akaji, S. Aimoto, *Lett. Pept. Sci.*, **8**, 277-284 (2002)
- 15) J. Vizzavona, F. Dick, T. Vorherr, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 1963-1965 (2002)
- 16) K. Nakamura, M. Sumida, T. Kawakami, T. Vorherr, S. Aimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **79**, 1773-1780 (2006)
- 17) K. Nakamura, H. Mori, T. Kawakami, H. Hojo, Y. Nakahara, S. Aimoto, *Int. J. Peptide Res. Therapeutics*, **13**, 191-202 (2007)
- 18) T. Kawakami, S. Aimoto, *Chem. Lett.*, **36**, 76-77 (2007)
- 19) T. Sato, T. Kawakami, K. Akaji, H. Konishi, K. Mochizuki, T. Fujiwara, H. Akutsu, S. Aimoto, *J. Pept. Sci.*, **8**, 172-180 (2002)
- 20) T. Sato, Y. Saito, S. Aimoto, *J. Peptide Sci.*, **11**, 410-416 (2005)

あいもと さぶろう
大阪大学蛋白質研究所 蛋白質有機化学研究室
aimoto@protein.osaka-u.ac.jp

平成19年度日本ペプチド学会奨励賞を受賞して

この度は、日本ペプチド学会奨励賞という名誉ある賞を頂き、大変光栄に存じます。会長の本曾良明先生をはじめ、理事、幹事、評議員、選考委員の先生方に、この紙面をお借りして改めて御礼申し上げます。本稿では、受賞の対象となりました「ユニークな分子構造を基盤とした生理活性ペプチド創生に関する研究」についてご紹介致します。

私は、学部4年生の時、九州大学理学部化学科の生物化学研究室に配属されペプチド合成研究を開始しました。当時の研究室は大野素徳教授の下、ハブ毒中のタンパク質やペプチド成分を研究しており、私は奄美ハブ毒に含まれるトリペプチド群を単離・精製し、合成研究によりそれらの構造を同定しました。トリペプチドという小さいサイズでありながら、構造中にトリプトファンを含み、また、初めての液相法に技術もおぼつかず戸惑う毎日でしたが、青柳東彦先生に丁寧にご指導して頂き、多くの先輩達にも助けられ、何とか合成することができました。3種のペプチドは全てN末端にピログルタミン酸を持つpGlu-Lys-Trp, pGlu-Asn-Trp, pGlu-Gln-Trpというトリペプチドで、そのうちpGlu-Lys-TrpはSephadexの担体を用いたゲルろ過において、通常よりも大きな分子量を示す位置に溶出されるユニークな挙動を示しました。これらのペプチドはヒメハブという別の種類のハブ毒の中にも存在することを明らかとし、さらに生理活性を調べたところpGlu-Lys-Trpのみが血圧上昇に働くアンギオテンシン変換酵素(ACE)を阻害することが分かりました⁹⁾。今、改めて考えますと、初めて出会ったテーマがユ



前田 衣織

ニークな挙動を示すペプチドであったことは、今回の受賞テーマとの何かの縁だったように思います。

修士課程から博士課程においては、下東康幸先生のご指導の下、ジペプチド性キモトリプシン阻害剤の設計研究を実施しました。キモトリプシンは疎水性アミノ酸を認識する酵素であるため、従来の阻害剤の開発研究においては、強い活性を有する阻害剤ほど疎水性が高くなり、難溶性となることが問題となっていました。そこで、D-Lのジペプチドのアミノ酸配列においては、その側鎖同士が疎水性相互作用することに着目し²⁾、水溶性のD-アミノ酸を1位に、L-フェニルアラニン³⁾を2位に用い、側鎖間で形成される疎水性コアが酵素のS2部位へ、C末端に導入したベンゼン環が酵素のS1部位へ配向する、水溶性のジペプチド性キモトリプシン阻害剤の設計を行いました^{3,4)}。合成したジペプチド性阻害剤は、いずれもキモトリプシンを特異的に強く阻害することを見いだしました。特に、1位のD-アミノ酸としてアルギニンを用いた場合においても、トリプシンではなくキモトリプシンを強く阻害し、当初のデザインが妥当であることを証明しました(表1)。C末端のベンジル基を削除したD-Arg-Phe-NH₂は、その分子構造中にフェニルアラニンを含みながらキモトリプシンを全く阻害せず、この結果からもC末端のフェニル基が酵素のS1部位に配向することが示されました。また、¹H-NMRによるコンホメーション解析による構造-活性相関研究を実施した結果、阻害能の発現にはD-Lのアミノ酸側鎖間における特異な疎水性相互作用(CH/ π 相互作用)が重要であることを見いだしました⁵⁾。設計した阻害剤については、N末端及びC末端などの各部位を化学修飾して阻害能の変化を検討し、阻害能の強さとコンホメーションとの関連について統合的に解析しました。

さらに、最も強い阻害能を示した阻害剤について、酵素-阻害剤複合体のX線結晶構造解析を行うことにより、想定したジペプチド性キモトリプシン阻害剤の阻害コンホメーションが妥当であったことを実証しました(図1)。酵素-阻害剤複合体の構造においては、想定された通りC末端のベンジル-フェニル基が酵素のS1部位へ、D-Lのアミノ酸側鎖間で形成された疎水性コアが酵素のS2部位へ配向するコンホメーションが観察されるとともに、L-Pheのフェニル基と酵素のHis57のイミダゾール基との間で π - π 相互作用することで、阻害剤がより強く酵素に結合することも見い出すことができました^{6,7)}。

受賞講演でもご紹介しました通り、上記のX線結晶構造解析研究は、明石市で開催されたペプチド討論会において、私が口頭発表した際に「そのモデルは間

違っているのではないのでしょうか？」と声をかけて頂いたことで共同研究を開始することとなりました。X線解析などによる構造決定をしない限り、私たちの提唱するモデルは「モデル」の域を出ることはできなかったと思います。本学会において発表する機会を頂きましたおかげで、想定した阻害コンホメーションを確定することができただけでなく、酵素-阻害剤の新たな相互作用を見いだすことができたことについて、感謝しております。思い出話となって申し訳ありませんが、当時は大きな会場で発表することも初めてで、緊張したのは勿論のこと、少しでも多くのデータを紹介できるようにと、学会前はほとんど徹夜の毎日でヘトヘトになったことなどを懐かしく思い出します。

現在は、九州工業大学情報工学部において、岡元孝二先生の下でエラスチン由来ペプチドを基盤としたバイオマテリアル開発のための基礎研究を行っています。構造タンパク質であるエラスチンは、血管、靱帯、肺などの弾性組織中の弾性線維の主成分です。エラスチンペプチドの水溶液は、低温(25℃以下)では透明で均一な溶液ですが、温度を体温(37℃)以上に上げていくと、分子が自己集合し、その結果溶液は白濁します(図2)。この溶液をそのまま放置すると、エラスチンペプチド分子をわずかしき含まない平衡溶液(上層)と、分子が濃縮された粘性のあるコアセルベート層(下層)の二層に分離します。この過程は可逆的であり、温度を25℃以下に下げると再び元の透明な均一溶液となります。この可逆的でユニークな自己集合の特性は「コアセルベーション」と呼ばれ、正常なエラスチンの線維形成、更には弾性機能の発現に重要な性質です⁸⁾。

エラスチンの前駆体であるトロポエラスチンには様々な疎水性アミノ酸の繰り返し配列が存在し、その中でVal-Pro-Gly-Val-Gly(VPGVG)から成るペプチド配列は、これまでに報告されているほとんど全ての動物種に存在しています。この繰り返し配列を有するポリペプチド(VPGVG)_nは、エラスチンに特有のコアセルベーション特性を示すことより、VPGVGがトロポエラスチンの構造の中で弾性機能を担う繰り返し配列であると考えられています。そこで、(V^PP²G³V⁴G⁵)_nの各アミノ酸残基のコアセルベシ

表1 ジペプチドのキモトリプシン及びトリプシンに対する阻害能

ジペプチド	K_i (μ M)		選択性
	キモトリプシン	トリプシン	
D-Arg-Phe-NHBzl	5.8	588	98
D-Arg-Phe-NH ₂	inactive	inactive	—
D-Arg-Ala-NHBzl	100	600	6
D-Ala-Phe-NHBzl	34	inactive	—
D-Phe-Arg-NHBzl	240	inactive	—

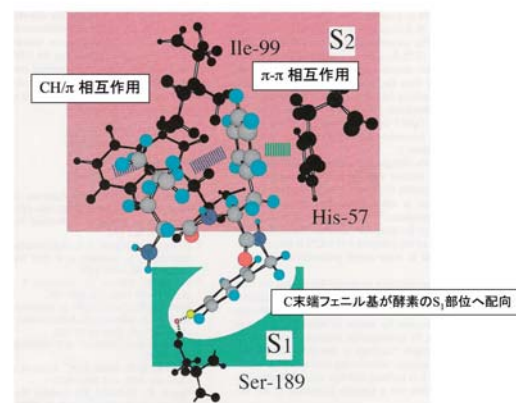


図1 キモトリプシン活性中心に結合したD-Leu-Phe-NHBzl(p-F)の構造
Shimohigashi Y et al. *Biopolymers* より抜粋

ンへの寄与を調べる目的で、C末端より1残基ずつアミノ酸を除去した(V¹P²G³V⁴)_n及び(V¹P²G³)_n、N末端のアミノ酸を除去した(P²G³V⁴G⁵)_nを化学合成し、コアセルベーション特性及び分子構造を調べました⁹⁾。

合成したポリペプチドアナログのコアセルベーション特性を調べたところ、(VPGVG)_nが完全可逆的な自己集合(コアセルベーション)能を示したのに対し、(VPGV)_nは不完全可逆的なコアセルベーション特性を有することが示されました[図3]。これに対し、(VPG)_n及び(PGVG)_nはコアセルベーション特性を示しませんでした。

ポリペプチドアナログの二次構造解析をCD及びFT-IRを用いて実施したところ、(VPGVG)_n、(VPGV)_n及び(VPG)_nは類似した二次構造を持つことが示唆されたのに対し、(PGVG)_nはランダム構造を取ることが示唆されました。コアセルベーション特性と二次構造解析の結果より、(VPGV)_nは(VPGVG)_nと類似したβ-スパイラル様構造を有していることが示唆されました。一方、(VPG)_nはコアセルベーションを示さず、β-構造を含むその他の規則構造を有することが示唆されました。また、(PGVG)_nはターン構造の基礎となるPro-Glyの配列を残してはいるものの、分子全体としては無秩序構造を持ち分子間で適切な相互作用が形成されないため、コアセルベーション特性を示さないと考えられました。さらに、各ユニットの配列を有するモノマー及びポリマーペプチドの

¹H-NMRによる構造解析を実施したところ、(VPGVG)_n、(VPGV)_n及び(VPG)_nでは、Val¹がPro²と側鎖間で疎水相互作用することが示されました。以上の結果より、ポリペプチドがコアセルベーションを開始するには、Val¹-Pro²側鎖間の疎水相互作用により安定化されたPro²-Gly³によるβ-ターン構造をコーナーにもつβ-スパイラル構造をとることが必須であることが示されました。

エラスチンは本来組織の弾性に寄与する構造タンパク質ですが、動脈硬化などの疾患においては、分解を受けて生じたエラスチン由来ペプチドが細胞遊走及び細胞増殖などの生理活性を有することで、病態進行に関与する可能性が示唆されています。これまでの報告において、ヘキサペプチド(Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly; VGVPAG)はそのような生理活性を有しており、マクロファージに対して遊走作用を持つことが報告されています。そこで、トロポエラスチン中に存在する2種のノナペプチド(Ala-Gly-Val-Pro-Gly-Leu/Phe-Gly-Val-Gly; AGVPGL/FGVG)と、6位のアミノ酸を他のアミノ酸に置換したアナログペプチドを合成し、マクロファージに対する遊走作用を調べました。その結果、2種のエラスチン由来ノナペプチドは同等の遊走活性を有しており、アナログペプチドのうち、Ile-置換したAGVPGIGVGのみが遊走作用を示しました(図4)。また、脱感作試験及びラクトース阻害実験より、エラスチン由来ノナペプチド及びそのアナログは、これま

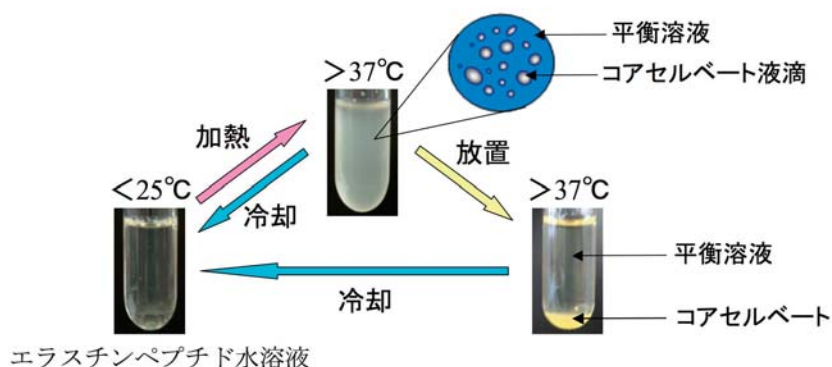


図2 エラスチンペプチドのコアセルベーション特性

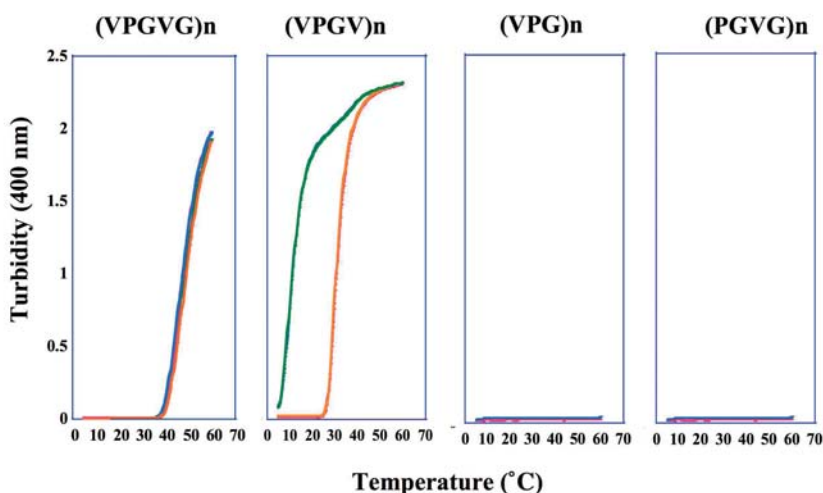


図3 エラスチン由来ポリペプチドのコアセルベーション特性

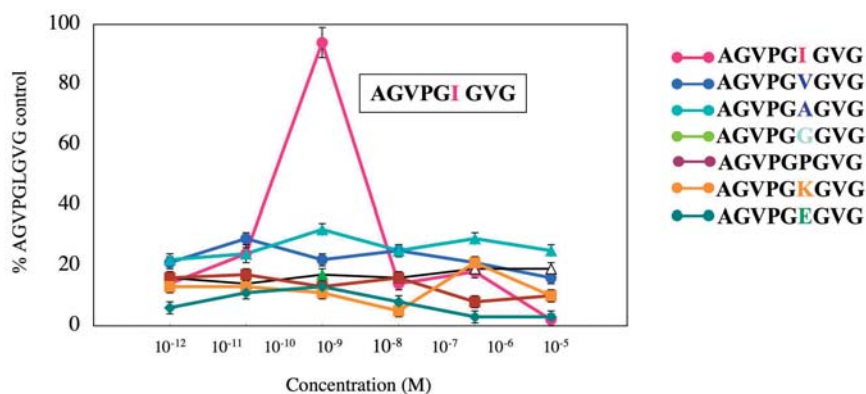


図4 エラスチン由来ノナペプチドアナログに対するマクロファージの遊走

でに報告されているエラスチンレセプターとは異なる、別のレセプターと結合することが示されました¹⁰⁾。

現在は、食品や医薬品にエラスチンを利用することを目的に、天然の動物組織に存在するエラスチンを簡便かつ高純度に精製する手法について検討し、開発を行っています（特許出願中）。

最後になりますが、これまでの研究生生活において多くの方にご協力頂きましたことを心より感謝し、御礼申し上げます。今後も先輩、後輩達と共に研鑽を積んでいきながら更に研究を発展させ、学会を盛り上げていく一端を担うことができると考えております。この度は、本当にありがとうございました。今後共ご指導ご鞭撻のほど、どうぞよろしくお願い申し上げます。

参考文献

- 1) Maeda, I. et al. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **66**, 1569-1571 (1993).
- 2) Deber, C.M. and Joshua, H. *Biopolymers*, **11**, 2493-2503 (1972).
- 3) Maeda, I. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **193**, 428-433 (1993).
- 4) Maeda, I. et al. *J. Biochem.*, **119**, 870-877 (1996).
- 5) Shimohigashi, Y. et al. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2479-2485 (1996).
- 6) Kashima, A. et al. *Eur. J. Biochem.*, **255**, 12-23 (1998).
- 7) Shimohigashi, Y. et al. *Biopolymers*, **51**, 9-17 (1999).
- 8) Urry, D.W. et al. *J. Protein Chem.*, **7**, 81-114 (1988).
- 9) Maeda, I. et al. *Peptide Science 2007*, in press.
- 10) Maeda, I. et al. *Journal of Peptide Science*, **13**, 263-268 (2007).

まへだ いおり
九州工業大学情報工学部
iori@bio.kyutech.ac.jp

酵素の基質ペプチドを用いて人工的に遺伝子発現を制御する

はじめに

聖マリアンナ医科大学微生物学教室の助教として中島秀喜教授のもとで研究・教育に従事しております浅井大輔と申します。私は2003年に九州大学大学院理学府分子科学・構造機能生化学研究室の下東康幸教授のご指導のもと学位を取得しました。その後、JST-さきがけ研究



浅井 大輔

21（九州大学大学院医学研究院 牟田達史助教授（現東北大学生命科学研究科教授）・JST-CREST（研究代表・九州大学大学院工学研究院 片山佳樹教授）の専任PDを経て、2006年4月よりJST-CREST片山チームのメンバーでもある当教室に異動し、現在、人工的遺伝子発現制御を目指したペプチド-ポリマーコンジュゲート（以下、ペプチド高分子）の開発研究を行っております。10月に札幌で開催された日本ウイルス学会学術集会に参加し北海道大学を訪問した際、PNJ編集委員であり、私が大学院時代にご指導頂きました坂口和靖教授よりPNJへの執筆の機会を得ました。ペプチド研究に携わっている若手研究者として自由に研究紹介をして欲しいとの主旨でしたので、JST-CRESTプロジェクトにおいて現在成果をまとめている段階の研究内容についてご紹介したいと思います。

細胞内シグナルに応答した疾患細胞選択的遺伝子発現制御の概念

疾患細胞に過剰発現している分子のリガンドやモノクローナル抗体を用いてターゲティングする分子標的治療薬の研究は現在、世界規模で熾烈な開発競争となっています。しかしながら、疾患細胞特異的な表面マーカー分子が容易に存在しないことと、組織内に疾患細胞と正常細胞が混在する病巣部位において、正常細胞に積極的に薬物が導入できないようにする機構が存在する訳ではないため、疾患細胞のみへの薬物送達には困難を伴います。私達はこれら問題点を克服すべく、疾患細胞の「外（表面）」ではなく細胞の「内」に注目しています。すなわち、疾患細胞に過剰に発現する特定のマーカー分子ではなく、細胞内分子群が作り

出している細胞内シグナルの異常を標的とした遺伝子送達概念 (D-RECS; drug and gene delivery system responding to cellular signals) を提唱し (図 1), この概念の妥当性について検証してきました。

図 2 に示すように, この正常・異常の細胞環境を見分けるセンサーとしてペプチドを用いています。細胞内シグナルを構成する分子群の大半を占める分子はキナーゼとプロテアーゼであることから片山チームではまず, プロテインキナーゼ A (PKA) とカスパーゼ 3 について焦点を当て, 後述の分子を設計して調べたところ, 外来遺伝子を標的疾患細胞でのみ発現させることに成功しました¹⁻³⁾。この概念の普遍性を示すことが PD としての私の研究テーマとなりました。

キナーゼ応答型分子の設計

私達は中性の水溶性高分子主鎖にカチオン性側鎖として標的キナーゼの基質ペプチドをグラフトしたペプチド高分子を設計しました (図 3)。このカチオン性高分子は, 静電相互作用によりアニオン性高分子である DNA と 100 nm オーダーのサイズの強固な複合体を形成します。また本高分子は中性の主鎖をもつため, これが立体障害となり遺伝子の発現に必須である転写因子群の接近・スライドを阻害し, 転写を抑制します。一方, 標的キナーゼが活性化している場合, 高分子の側鎖ペプチドにリン酸基が導入されるため, 高分子全体としてのカチオン性が相殺され, ついには複合体が崩壊します。これが標的キナーゼによる遺伝子発

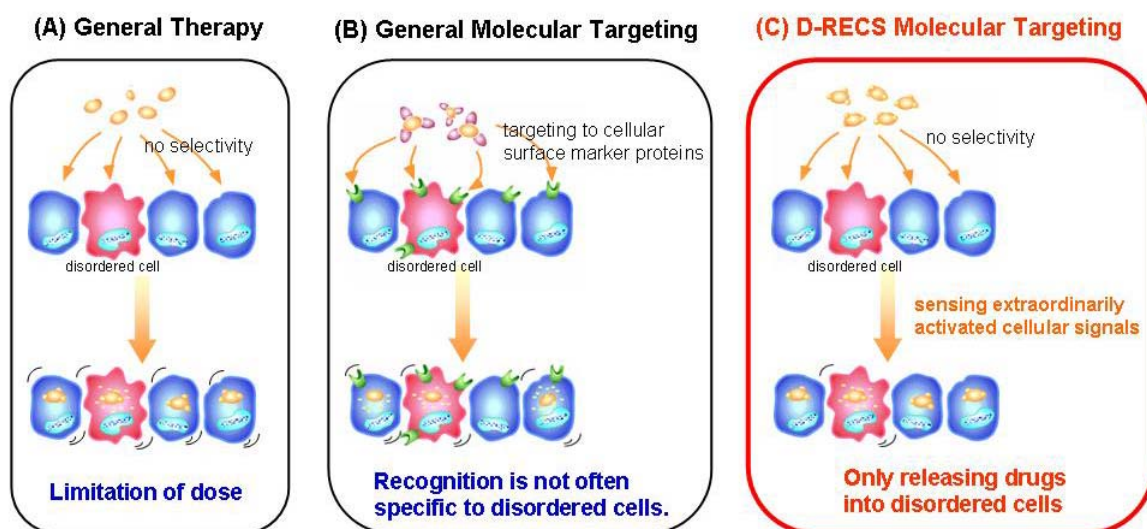


図 1 薬物送達戦略

(A) 薬物自体に選択性はなく正常・異常どちらの細胞にも送達される。それゆえ, 副作用を生じさせないために用量が制限される。(B) 薬物は異常細胞表面に特異的に発現している分子による認識を行う。標的分子の発現が異常細胞特異的でない場合, 正常細胞にも薬物が送達され副作用の原因となる。(C) 私達が提案する戦略。薬物自体に選択性はないが, 異常細胞で活性が亢進している細胞シグナルを感知して薬物を放出する。

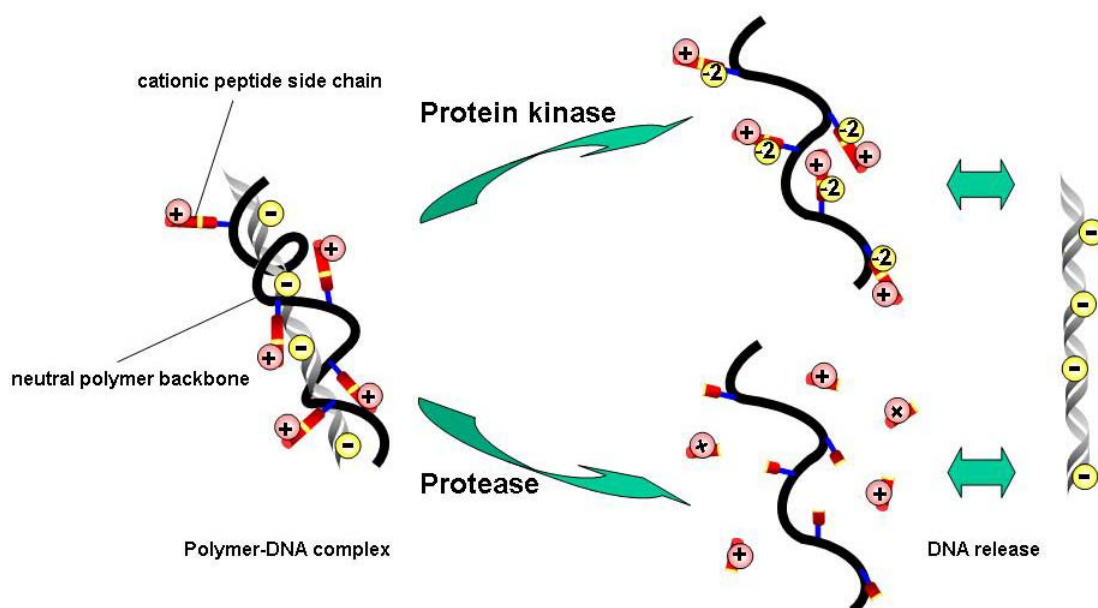


図 2 キナーゼ・プロテアーゼに応答した人工的遺伝子発現制御の概念

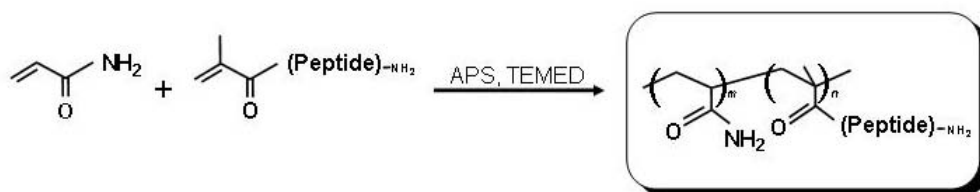


図3 ペプチド高分子の合成スキーム

現活性化の仕組みです（図2上段）。乳癌・皮膚癌細胞ではPKAやプロテインキナーゼC（PKC）、Srcキナーゼが、大腸癌細胞ではPKAやI κ Bキナーゼ（IKK）が、肝癌細胞ではPKC、IKKの活性の恒常的亢進が認められることが報告されています⁴⁷⁾。これらは正常細胞では認められず、細胞内異常シグナルとして捉えることができます。そこで私達はこれら種々の癌細胞に認められる恒常的に活性化したキナーゼ群のシグナルを感知して治療用遺伝子を放出するペプチド高分子を設計・合成して機能解析を行いました。

まず、各種キナーゼが標的とするタンパク質のリン酸化部位を抽出したペプチドやライブラリー由来のペプチドをキナーゼ基質として設計しました。静電相互作用によりDNAと結合させるためカチオン性ペプチドとし、アクリルアミド誘導体と重合して高分子化するためN末端をメタクリロイル化したペプチドをFmoc固相合成法により合成しました。リコンビナント酵素とMALDI-TOF-MSを用いて基質ペプチドを選定した後、アクリルアミド誘導体とラジカル重合させ、ペプチド高分子を調製しました（図3）。高分子にグラフトした状態、およびDNAと複合体を形成した状態でもキナーゼによりリン酸化されることを高分子に取り込まれた $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ を定量して確認しました。次いで、アガロースゲル電気泳動により高分子-DNA複合体の形成とキナーゼによる複合体の崩壊を解析しました。DNAが高分子と複合体を形成すればDNAの負電荷が高分子の正電荷により相殺されて泳動されなくなるという原理です。高分子-DNA複合体を形成しているときは泳動されず、キナーゼ処理により複合体が崩壊してDNAが放出され泳動されるようになることを確認しました。さらに、マイクロインジェクションにより高分子-DNA複合体を細胞導入して遺伝子発現制御能を調べたところ、標的キナーゼの活性が亢進した細胞に有意に導入遺伝子の発現が認められました。PKC応答型ペプチド高分子については担癌マウスにおいても癌細胞特異的な導入遺伝子発現が認められ、現在、トキシン遺伝子の強制発現による癌治療に向け研究を進めています。

プロテアーゼ応答型分子の設計

HIV、HTLV-1やコクサッキーウイルスなどの、その増殖にウイルス固有のプロテアーゼを要するウイルスに焦点をあて、ウイルス感染症に対する遺伝子治療法開発の一戦略として感染細胞特異的に遺伝子を発現させる手法の開発を目的としました。前述のキナーゼ応答型ペプチド高分子と同じ発想で、カチオン性ペプチドとして細胞膜透過能をもつHIV Tat配列およびオクタアルギニンを用い、これと高分子鎖をつなぐ部分にウイルスプロテアーゼで特異的に切断される基質配列

を導入しました。すなわち、ウイルスプロテアーゼによりカチオン部分が高分子から切断されることで高分子-DNA複合体を崩壊させる原理です（図2下段）。リコンビナントプロテアーゼとMALDI-TOF-MSによる基質の評価、アガロースゲル電気泳動によるペプチド高分子の解析を上述のキナーゼ応答型の頁と同様に行い、ウイルスプロテアーゼ依存的にプラスミドDNAを徐放するペプチド高分子を見出しました。また、無細胞系の発現実験により評価したところ、高分子との複合体は遺伝子の発現を抑制し、一方、ウイルスプロテアーゼを添加すると遺伝子発現が元のレベルまで回復することを確認しました。さらに最近、培養細胞にウイルスを感染させて調べたところ、ウイルス感染細胞特異的な遺伝子発現を確認するに至りました。現在これらの結果を整理して成果発表を進めています。

おわりに

佐賀大学の近藤道男教授・児玉浩明准教授よりアミノ酸・ペプチドの化学を学んだのが私の研究のスタート地点であり、その後の研究の基盤となっています。大学院時代はペプチド科学に加え非天然アミノ酸やステロイド修飾などの有機合成化学実験に携わり、有機化学基礎研究センターの新名主輝男助教授（現 先端物質化学研究所教授）にご指導頂き、有機化学実験の基礎を学びました。また、現在、下東研究室に根付いている核内受容体コンホメーションセンシング抗体の基礎の確立には福岡女子大学の小泉修教授にご指導頂き、免疫学的実験の基礎を学びました。学位取得後はペプチド科学から離れ、九州大学医学部第二生化学で細胞生物学・分子生物学的手法による自然免疫研究に従事しました。次いで、九州大学工学部応用化学教室、そして現在は医学部微生物学教室に身を移し、再びペプチド科学を基盤として研究しています。下東研究室を離れてはや5年が過ぎようとしています。研究室を巣立つ際に下東教授から、狭い領域に偏向・居住することなく、広範な分野に身を置き研究することの重要性を教わりました。当時の私は漠然とした言葉の真意を理解できませんでしたが、最近ようやくその意味がわかるようになってきました。軸がぶれることなくしっかり地に足をつけ、自分の研究に対する独創性を模索しながら、これからも実験科学を通して研鑽を積んでいきたいと思っています。

謝辞

今回ご紹介した研究は九州大学・片山佳樹教授のご指導のもと実施したものです。ここに深く感謝します。また、遺伝子デリバリーに関する的確な助言を賜りました当教室の東海林洋子非常勤講師および九州大学・新留琢郎准教授に感謝します。そして、研究を

共に実施した片山研究室の姜貞勲博士、佐藤裕子博士、児玉耕太博士（現 福岡大学薬学部助教）ならびに片山研究室の諸兄諸子に感謝します。最後に、本研究は独立行政法人科学技術振興機構の補助金により行ったものであり、ここに感謝の意を表します。

参考文献

- 1) Katayama, Y. et al., *Biomacromolecules*, **3**, 905-909 (2002)
- 2) Oishi, J. et al., *J Control Release*, **110**, 431-436 (2005)
- 3) Kawamura, K. et al., *Biomacromolecules*, **6**, 908-913 (2005)
- 4) Hulme, P.C., et al., *Eur. J. Cancer*, **96**, 2120-2126 (1996)
- 5) Griner, E.M., et al., *Nature Rev. Cancer*, **7**, 281-294 (2007)
- 6) Irby, R.B., et al., *Oncogene*, **19**, 5636-5642 (2000)
- 7) Greten, F.R., et al., *Cell*, **118**, 285-296 (2004)

あさい だいすけ
聖マリアンナ医科大学 微生物学教室・助教
asai@marianna-u.ac.jp

カリフォルニア工科大学における研究教育

岡山大学（宍戸研究室）にて助教をやっております、瀧と申します。本年度8月より、教職員の教育研究能力の向上を目的とする大学教育の国際化推進プログラム（文科省）に従い渡米し、現在カリフォルニア工科大学（CALTECH; カルテック）の Alexander Varshavsky 研究室（<http://biology.caltech.edu/Members/Varshavsky>）にて共同研究を行っております。Varshavsky 教授とは渡米するまで一面識もなく、私が突然 e-mail をしてご快諾いただけたことは本当に幸運でした。今回の渡米記を書くにあたり、読者の方で、これから海外を目指そうとする若い方や同世代の方に少しでも役に立ちそうなことにも重点をおき記述させていただきます。



瀧 真清

1. キャンパスについて

カルテックの外観はとても綺麗で、テレビのロケなどもよく行われています。建物や木々が、夜間にうまくライトアップされるように照明が工夫されており、昼間の雰囲気とがらりと変わるのも見ものです。カルテックは日本の短大程度の小規模大学ながら、ノーベル賞受賞者を31人輩出しており、彼らが普通にキャンパスを歩いたり学食で食べていたりするのを目撃します。受賞者の講演会も時折開催されます。先月は DNA で有名なワトソン先生の講演を拝聴してきました。福利厚生施設も充実していて、特に体育館（ジム）ではスタジオプログラム（ブートキャンプ、ヨガ、エアロ、ステップ、カーディオ等々）が無料で受講できます。ただ、土足厳禁という習慣がないため、機材がすぐに汚くなるのがいただけませんが（>物を

大切に扱う習慣は日本の美德です）。11月上旬には、学内にある2000本のオリーブの木に実った果実をつみ取り、昔ながらの製法でオリーブ油を搾取して、それを使った料理を約2000人に振る舞うオリーブフェスティバル（学園祭？）が開催されました。有志でジャズの生演奏なども行われ、良い雰囲気を楽しめました。

2. ラボについて

カルテックでは、研究中心のPIの先生と、授業中心の先生とははっきり分かれています。私がお世話になっている Varshavsky 先生は前者で、先生の授業のノルマも、一年で1セメスタ（1こま）のみです。昔は幾つもの授業を教えておられたようですが、ご本人曰く教えていると熱中するあまり研究に回すべき労力を使い果たしてしまうので、現在のスタイルの方が良いとのこと。Varshavsky 先生のお仕事は殆どがペーパーワーク中心です。ポストドクや学生の給料も含めてお金を稼いでくる必要があるからです。アメリカの科学技術政策として、NIH 予算が年々大幅に削られています。研究の肥大化と共に、その少ない予算を巡ってますます競争が激化することが考えられるので、先生の苦勞も並大抵のものではないでしょう。

ラボの構成は、先生およびマネージャー（技官）以外の全員が博士研究員（>つまり全員がプロ）で、皆切磋琢磨しています。従って、ラボの雰囲気は大学というよりも研究所そのものです。ちなみに博士研究員の方は、全員ご結婚されていますので、ご家族がラボに来られる光景をよく見かけます。例外として、学部2年生の学生が休暇などを利用して時々実験をしに来ます。この学生に聞いてみたところ、ラボのスタイルは各ラボのPIの方の方針に依存し、学生とプロとの割合が半々くらいの構成が一般的で、日本のような学生が大多数を占めているラボもあるようです。Varshavsky 研は多国籍ですが、アジア系の人が多いです。日本人は私しかいません。研究室だけでなく、大学全体でアジア系の方を多く見かけます。

ラボミーティングは週に1回、水曜の午前中に開かれます。Varshavsky 先生が軽く論文紹介をしたあと、ポストドクの方が研究結果を発表するという、通常のス



1. カルテックのキャンパスと向こうに見えるオリーブの木

マイルです。そのあと皆で出前などを取ってランチをします。午後の休憩時間には、学内のカフェでコーヒーを飲みながら話をしていることが多いです。カルテック公認タンブラーを持参すると、コーヒーのrefillが半額になるので、ラボの方は私を含め皆これを持っています。

ラボで使う汎用試薬や消耗品は、ストックルームという共通の保管庫へ各自が取りに行き使って使うシステムになっています。ストックルームにないものは、学内の発注係にメールして発注します。PIが試薬の値段について業者の人と交渉することはないようです。日本のような代理店のシステムがないにも関わらず、値段は日本と同じか、幾分高く感じました。最近、私がRIを使った実験を開始するにあたり、学内のRI主任から2時間ほどマンツーマンの教育を受けたのですが、内容が実践的でよく理解できました。デスクワークする場所を含め、ラボ内全体がRI使用区域になっているのは、便利な反面少し恐い気もしています。

3. retreat について

10月末にはretreatと呼ばれる、この大学の生物科「だけ」で行われる勉強会があり、私も参加してきました。大学のある場所から高速で2時間(!)くらい行った海沿いのホテルを貸し切って2泊3日で缶詰になってやります。参加者は大学院学生、ポスドク、スタッフのみで、招待講演等はありません。参加人数は総勢百数十人くらいでしょうか。スポンサーは大学で、大学所属者は参加・飲食・宿泊費が無料でした(>家族を連れて行く場合のみ費用が発生します。ちなみに個人的には、飲食費等は本来自腹で出すべきだと思いますが)。他の学科によるretreatも開催されているようです。

retreat の進行形式: 学科内のPIの先生方や時にはポスドクや学生が各30分くらいの持ち時間で次々とオーラル発表するのがメインで、その他ポスター発表、ランチ、ディナー、skitと呼ばれる余興、夜の懇親会などがあります。ポスターと夜の懇親会は学生やポスドクが殆どで、日本でいう若手の会的な雰囲気でした。

retreat の位置づけ: 一番大事なことは、9月に大学院に入学したばかりの修士1年生にとって、研究室を選ぶ際に非常に重要な意味を持つらしく、retreat で聞

いた内容を元に希望研究室を各自複数(3つくらい)選び、2ヶ月くらいずつ複数の研究室をハシゴして体験することで、最終的に自分がどのラボに所属するかを決めるようです。また、生物学科だけの会といっても独立講座制である分、各ラボの研究分野は実に多岐に渡っています。具体的には、動物学、植物学、細胞生物学、脳科学、化学生物学などなどです。ともすればラボ間でのコミュニケーションが無くなりがちになってしまうので、それを防ぎ、知識と理解を共有する意味も持つようです。半分のくらいの講演は、私はほとんど理解できませんでしたが、連続して何年も出続けていると、だんだん分かるようになってくるらしいです。さらに、学科の取り組みとして、本学内シンポジウムを通じて学部の底上げをはかることで、大学院学生の意識レベルの低下や研究水準の格差化を避けようとしているようにも感じました。学生を学会や若手の会に連れて行き教育する手法は、その学生の研究意欲が高いというのが前提ですから、私は時々限界を感じることがあります。retreat とは行かないまでも、学部や学科を通じて会を開き、研究教育の底上げをはかることは日本でも有効な手段かもしれません。

4. 英語について

私の場合、英語のマンガとDVDを買って、帰宅後に反復して読み聞きすることが、気分転換も兼ねて一番効果的なことが分かったので実践しています。DVDは字幕も出るし、スピードの調節も可能です。何度も反復練習もきく上に、手持ちのノートPCとイヤホンさえあればいつでもどこでも見聞きできるので特に効果的です。中でも、聞き取りやすい英語で粋な言い回しが学習できるディズニータニメが特にオススメです。日本のマンガは海外でも超人気で、本屋ではcomicsとは別のmangaという分類で売っているところもあるくらいです。英語の学習を兼ねるなら、擬音だけでほとんど終わってしまうアクションものよりも、ストーリー性が強くて英文が沢山出てくるものが良いかと思います。テレビは、言葉がどんどん流れていってしまうので学習効率はマンガやDVDに比べてよくないかもしれませんが、とにかく少しは役に立ちます。アメリカには耳の聞こえない人向けに、テレビに字幕を出す設定があるので、常にそのモードにしてお



2. ラボの仲間と近くのスシ屋でランチ



3. retreat のポスター発表

くと良いでしょう。分からないなりにぼーっと聞いてみると、自分の知らないキーワードとなる単語が時々出てくるので、それを字幕で読んで辞書で調べています。辞書は、コンパクトな英英和辞典を持って行くと便利です。日本語で単語の意味を理解できると同時に、英語の別な言い回しを覚えることができるからです。その他、ラボの呼び出し電話に率先して出ることや、事務的な手続きを代行せずに自分でやることも割と有効でした。書籍では、銀行・美容院・運転免許取得・自動車登録&修理・郵便などの生活の細かい状況に応じて実際に「使える」単語とフレーズおよびコツがコンパクトにまとまっている「アメリカ暮らしの英語」(創元社・スキルマン圭子著)は有益だったので紹介しておきます。それ以外のアメリカ生活のHowTo系の書籍は、インターネットで数多く調べれば代用できる上に、実際に渡米してみないと分からないことも多いので私にはほとんど役に立ちませんでした。

5. 日本との連絡手段について

5-1. PCとネット

岡大の私の小グループでは月一回のペースでグループミーティングを開いておりましたが、アメリカに来てからもインターネットカメラとWindows Live Messengerを使ってグループミーティングを続けています。ネット技術の進歩には本当にびっくりします。学生からは、何でもできすぎて恐い気がすると言われました。その通りだと思います。ネットはあくまでも補助の役割なので、毎日の泥臭いアナログな実験を大切にするように言いました。論文検索や日々の学習も、決してネットだけを頼りすぎないように注意してくださいとも伝えました。特に実験記録は、必ずアナログ(>ノート)で取ることが肝心だと思います。そのほか教育面で工夫している点は、メーリングリストを使って新しい論文やこちらで起こったホットな話題の提供を行っていることです。ちなみにPCに関連して、アメリカでは、日本語環境の使えるPCが容易に手に入らないと聞いていましたので、いつ何時PCが壊れても対応できるようにしておきました。大容量携帯型HDおよびメモリスティックは、バックアップ以外にもいろいろ役立ちます。

5-2. 携帯電話

携帯は各社ありますが、Verizonなど電波状況の定評のある所を選ぶと良いです。1年未満の滞在の場合、アメリカ国内でのクレジット履歴やソーシャルセキュリティナンバー(SSN)を持っていないと契約することは難しいです。そこで、プリペイド式の携帯電話を買いました。最近、この携帯を使って国際電話を安くかける方法に気づきましたので紹介します。まず、スーパーや薬局でinternational prepaid phone card(MCI社など)を購入します。このカードに書いてある番号は携帯からでもアクセス可能で、音声ガイダンスに従って日本の電話番号を入力すると、\$20で数時間日本と会話できます。ちなみにアメリカにおける携帯の番号は、日本で言うところの090で始まる特殊な番号ではなく、固定電話と全く同じように市外局番が割り当てられています。私のように1年未満の滞

在の場合、携帯だけで十分で、固定電話を引く必要は殆どないと思いました。

最後に、渡米に従い多大なご協力をいただきました岡大工学部・生物機能工学科の教職員の方々、および今回執筆の機会を頂きました編集委員の先生方、および本派遣プログラムにてご支援いただけましたことに深く感謝申し上げます。本プログラムで得られた経験を、今後の研究・教育に大いに生かして行きたいと考えております。

たき ますみ
岡山大学大学院・自然科学研究科・助教
taki@biotech.okayama-u.ac.jp

ポリテクニク大学グロス研での プロテアーゼによるオリゴペプチド合成

山形大学の鳴海と申します。野水基義先生(東京薬科大学)のご紹介で、この春に本会に入会させて頂きました。所属は大学院理工学研究科・機能高分子工学分野で、川口正剛先生と高分子化学に関する研究を行っております。全くの新参者ですが、2004年4月から一年間、米国ポリテクニク大学Prof.



鳴海 敦

Richard A. Grossのラボで、酵素によるバイオポリマー合成に関する研究の一環として、プロテアーゼを用いたオリゴペプチド合成を行いました。本稿では、そこでの研究と、加えて、ポリテクニク大学、ニューヨークでの生活、そして最後に、大学院生や若手の研究者へのメッセージをこめ、渡航までの経緯について述べさせて頂きたいと思っています。

1. ポリテクニク大学ブルックリン校について

ニューヨーク地下鉄Fライン「Jay St/Borough Hall」駅を降り、外に出るとすぐに大学の入り口があります(写真左上)。大学に入り守衛を通過すると、楯が掲げてあります(写真中央)。この楯について説明させて頂きます。楯には、上部に米国化学会(American Chemical Society: ACS)のシンボルである鷹、そして「NATIONAL HISTORIC CHEMICAL LANDMARK」、 「THE POLYMER RESEARCH INSTITUTE」、 「Polytechnic University, Brooklyn, New York」という文字が続きます。ACSがケミカル・ランドマークに指定した、すなわち、この場所が「米国の化学の進歩において重要な役割を果たした」ことを認定した楯であることがわかります。なお、ポリテクニク大学の前年である2002年には、ナイロンを発明したデュポン社・カロザース博士の研究室が同じランドマークに指定されています。ポリテクニク大学の功績とは、1960年代の高分子化学の基礎研究を指します。米国のポリマーケミストリーはここを発祥とし、現在の中核とされるUniversity Massachusetts AmherstやUniversity of Akronに広がっていったといえます。なかでも、Her-

そこで、次なる展開として、高分子量化に挑戦することにしました。しかし、これまで未解決の難題です。そう簡単にこれだという方法は思いつきません。グロス先生と議論を重ねた結果、生成したオリゴペプチドをさらに連結させて、結果的にポリアミノ酸ベースの高分子量ポリマーに変換しようということになりました。そのために、異種アミノ酸の共重合を検討しました。共重合するアミノ酸の組み合わせには、グルタメートとシステインを選びました。グルタメートは、後で加水分解することにより、水溶性のカルボキシル基に変換できるからです。システインは、チオール基の、不飽和二重結合へのマイケル付加反応を使ってやろうということです。実際にやってみると、共重合が可能であること、さらに、生成物の共重合組成比が用いるプロテアーゼの種類によって変わる、という酵素反応ならではのおもしろさもあることがわかりました。加水分解反応により予想通り生成物を水溶性にすることができ、さらに、両末端にアクリレート基を有するポリエチレングリコールとの付加反応により、最終的にポリアミノ酸ベースのハイドロゲルを得ることに成功しました。

3. ニューヨークでの生活

家賃が高いという問題がありましたが、先生方のアドバイスもあり、マンハッタンにアパートを探し、エンパイアステートビルのすぐ横、コリアンタウンにあるアパートに決めました。結果は、一言でいうと、大正解でした。まず食べ物です。ときどき夕食にレストランで韓国料理を食べるのが楽しみになっていました。コリアンスーパーもすぐそこで、地下には日本のテレビ番組をレンタルビデオで貸し出ししてありました。少し歩けば日系のスーパーや書店があり、刺身、納豆、たくわん、何でもありました。それよりもアパートをマンハッタンにして良かったのは、治安がいいこと、全体がテーマパークのようなマンハッタンの中を東西南北に探索することができたことだと思います。セントラルパーク、ユニオンスクエア、イースト



ニューヨークの写真：ビレッジバンガードの入口（左上）、ヤンキースタジアム（左下）、ブルックリンハイップロムナードからの眺め（右上）、尾之内さんとメトロポリタン美術館の前にて（右下）、エンパイアステートビルとタイムズスクエア（中央）

ビレッジも徒歩圏内で、ジョギングをしたり、フリーマーケットの雰囲気を楽しんだり、世界各国の料理を楽しむことができました。大学はマンハッタンではなくブルックリンにありましたが、ブルックリンハイツという閑静な高級住宅街がすぐそこでした。ブルックリンハイツにはマンハッタンとは違い、地元向けの安くておいしいレストランがあり、ランチにでかけるのも楽しみの一つでした。大学までは地下鉄で通っており、メトロカードというニューヨークの地下鉄とバスが乗り放題のカードを持っていたので、ヤンキースタジアムやホットドッグの早食いで有名なコニーアイランドのビーチにも地下鉄で簡単に行くことができましたし、ジョギングをしていて疲れたら通りかかったバスに飛び乗るなど、なかなか活用していたと思います。名古屋大学から当時博士課程に在学中の尾之内久成さん（現・奈良先端科学技術大学院大学助教）が、グロス先生のスーパーバイザーでもある同じポリテクニク大学の Professor Mark M. Green のラボに、私より先に渡航されていました。彼とは2ヶ月しかかぶっていませんでしたが、名大ジャズ研出身ということもあり、ビレッジバンガードというニューヨーク最古のジャズクラブに連れて行ってくれたり、夜遅くまで研究の話もしたり、大変お世話になりました。この場をお借りしてお礼申し上げます。美術館、博物館、ミュージカル劇場にも足を運び、今回の渡航では、研究だけではなく、大都会で感性も研ぎ澄ますことができたように思います。

4. 渡航にいたるまで

海外での研究を、ゼロから自分で思いついて、実行に移すのはなかなか難しいことだと思います。私の場合、指導教官であった覚知豊次先生（北海道大学）の教えもあり、比較的早い段階から海外を意識する習慣がついていたように思います。より話が現実味を帯びてきたのは、加我晴生先生（産業技術総合研究所）の研究室にて、学振特別研究員 PD に採用が内定した時点です。学振の制度では、任期3年のうち半分の期間を、海外の機関で研究に従事することができます。当然、日本での受入先の先生の承諾が必要なわけですが、私の場合、加我先生のご理解にも恵まれ、海外での研究を経験するまたとないチャンスが訪れました。受入先を何処にするかは迷うところですが、グロス先生のところにアプライしてみよう、と思い立つまで時間がかかりませんでした。グロス研の研究は、学部4年次に論文を雑誌会で紹介したのをきっかけに、以来ずっと興味をもっていたテーマでありましたし、加えて、2002年にボストンで行われた米国化学会国際会議にて、私のポスターブースにグロス先生が現れたことも何かご縁があったのかもしれない。その時に頂いた名刺を取り出して大学がニューヨークにあることを知り、何も知らない私はまずニューヨークの治安が心配になりました。しかし、インターネットで中沖隆彦先生（龍谷大学）のグロス研での一年間を記した HP を発見し、むしろニューヨークは安全で楽しい街であることがわかってきました。残る問題は家賃です。Curriculum Vitae（履歴書）と研究業績一覧、これにグロス研に渡航したい旨、それとできれば金銭的にも

補助をして欲しいと記した手紙を添え、一式を封書で送りました。少ししてEメールで返事が来ました。内容は待ちこがれていた最高のものでした。

この渡航が実現したのは、もとをたどると、D2の時に、界面活性剤関連の国際シンポジウム（米国フロリダ州ゲンツビル）に行き着くと思っております。私はそこで初めて、英語での口頭発表を経験しました。発表申し込み当時は、研究テーマを変えてようやくどうにかデータらしいものがでてきたD1の頃であり、ポスターならまだしも、海外で口頭発表を行うなど、まず自ら思い立つことはありません。指導教官である覚知豊次先生がシンポジウム参加と口頭での発表を勧めて下さったおかげです。もちろん出発まで、そして現地に着いてからも練習を続けました。発表本番では、座長であったプリンストン大学の教授に「グッドジョブだ」とのコメントを頂き、以後の自信にもなりました。この経験で成し遂げたスキルアップは自分の中では過去最大であり、今の自分の大きな財産となっております。グロス研でのプレゼンテーションや報告会、その後に行ったACS国際会議での口頭発表などにも臆することなく対応できたのは、フロリダでの口頭発表と、そこまでの試行錯誤と練習があったからだと感じています。目標設定を引き上げ、また、早い時期から海外経験をサポートして下さった覚知先生に感謝するとともに、これからは同じことを、ご縁のある方に勧めたい、という気持ちです。偉ぶったことは言えませんが、もし、これを読んでいる大学院生や若手研究者の方がいらっしゃいましたら、自分なりに決めている目標設定を二つ三つ上のものに切り替えてみてはどうでしょうか。何とか乗り切れるものですし、達成した際のスキルアップは計り知れず、将来の財産となることは間違いありません。

最後になりましたが、フロリダの一件で大変お世話になったのが、当時、北海道大学におられた野水基義先生です。研究室や専門が異なるのにもかかわらず、原稿添削、それから発表練習までマンツーマンでお付き合い下さいました。心より感謝いたします。全くの新参者ですが、これからペプチドに関連する研究にも挑戦していきたいと思っております。どうぞよろしくお願い申し上げます。

なるみ あつし
山形大学大学院理工学研究科・助教
narumi@yz.yamagata-u.ac.jp

リボソームを用いたペプチドの翻訳合成

今回、私は2007年11月7日から9日にかけて富山市でおこなわれた第44回ペプチド討論会に参加させていただき、ポスター発表の機会を得ることができました。発表では様々な先生方からご助言をいただき、大変有意義な時間を過ごすことができたばかりでなく、大変光栄なことにポスター賞を受賞させていた



佐古 佑介

だくことができました。そこでこの場をお借りしまして、私の行っております研究について簡単にご紹介したいと思います。

私たちの研究室ではリボソームを用いたペプチドの翻訳合成に取り組んでいます。リボソームはmRNA上に記された遺伝情報を翻訳し、それをもとに正確にアミノ酸を連結させることができる極めて精密な生体装置です。リボソームによるペプチドの合成は、従来の化学合成法に比べて様々な利点が考えられます。例えば、ペプチドの配列をコードするmRNAをライブラリー化することで、 10^6 を超える極めて高多様なペプチドライブラリーを構築することが可能です。また、PCRの手法を用いることで配列情報を容易に増幅することができるのも大きな特徴でしょう。このようなことから、リボソームによるペプチドの翻訳合成は工学的にみて極めて魅力的な手法といえます。一方で通常のリボソーム合成では、ペプチドを構成するアミノ酸が天然アミノ酸20種類に限定されてしまうという深刻な欠点がありました。私たちは、以下に述べる2種類のテクノロジーを用いることでこの問題を解決し、これまでに様々な非天然アミノ酸をペプチド中に導入しています。そこで、まずこれらの方法について簡単に解説していきたいと思います。

第一のテクノロジーは、東大の上田卓也先生らのグループによって開発された再構成型の無細胞翻訳系です。通常は無細胞翻訳系が細胞の抽出液を用いるのに対し、この翻訳系はそれとは逆のアプローチを取ります。すなわち、翻訳に必要な因子、具体的にはアミノ酸、tRNA、リボソーム、そして種々の翻訳因子タンパク質群を個別に調製し、これらを混ぜ合わせることで翻訳系を構成するのです。この系の素晴らしいところは、系中から任意のコンポーネントを取り除くことができる点にあります。例えば、系中からアミノ酸を一種取り除いたとしましょう。そうすると、このアミノ酸に対応するコドン（mRNA上の遺伝暗号）はもはやアミノ酸を指定しておらず、空の状態になります。そこで、このコドンを新たに非天然アミノ酸として用いることができるようになるのです。この方法はセンスサプレッション法と呼ばれています。

次に、空になったコドンを非天然アミノ酸に置き換えるために、そのコドンに対応するtRNAを用意し、これを非天然アミノ酸と結合させます。このtRNA（＝アミノアシルtRNA）を、先ほどの無細胞翻訳系に入れてやることで、非天然アミノ酸がペプチド中に導入されるのです。アミノアシルtRNAの合成法についてはこれまで様々な方法が報告されてきましたが、特定のアミノ酸にしか使えなかったり、合成に高い技術力を要するといった問題点が指摘されていました。私たちの研究室では、アミノアシルtRNAを迅速かつ簡単に調製できるRNA触媒を開発し、フレキシザイムと名付けました。これが第二のテクノロジーです。図1に示した通り、フレキシザイムはtRNAの3'末端の配列のみ認識し、その他の部分の配列は認識しません。また、基質となるアミノ酸については活性基のみを認識しているため、様々な側鎖に対応できます。フレキシザイム、tRNA、そして活性化されたアミノ酸を水中で混ぜ、2時間程度反応させるだけで、様々な

種類の非天然アミノ酸でアシル化された tRNA が簡単に調製できるようになったのです。

私たちはこれまでに様々な種類の非天然アミノ酸がペプチド中に導入されることを示してきました。そこで次に、ある種の非天然アミノ酸を用いることでペプチドを環状化する方法について紹介したいと思います。

天然には様々な生理活性を示すペプチドが見つっていますが、それらのうちの多くのものが大環状構造を取っています。これは、環状化することでペプチドの構造が安定化し、ターゲットとの親和性が上昇することや、プロテアーゼに対する耐性が増すからだと考えられます。一方でリボソームによるペプチド合成の場合、環状化の方法はシステイン残基のチオール基どうしによるジスルフィド結合に限られてしまいます。ジスルフィド結合は還元条件下で容易に開裂してしまい、安定性に問題がありました。将来的に血中で安定に存在することができるペプチド製剤を開発しようと考えたとき、これは深刻な問題点となります。そこで私は、リボソームによって合成されたペプチドを、ジスルフィド結合以外の結合を用いて環状化する方法を開発することにしました。

図 2 に示された非天然アミノ酸 N^{γ} -(2-chloroacetyl)- α , γ -diaminobutylic acid (Cab) は側鎖にクロロアセチル基をもちます。この非天然アミノ酸をペプチド中に導入した時、同一ペプチド中にシステイン (Cys) が存在した場合、Cys のチオール基がクロロアセチル基の α 炭素を攻撃し、図のようなチオエーテル結合が形成されることが期待されます。チオエーテル結合は還元条件下でも切断されませんので、安定な形でペプチドが環状化されたことになります。そこでまずフレキシザイムを用いて Cab を tRNA に付加し、続いて再構成型無細胞翻訳系により Cab を含んだペプチドを翻訳合成しました。質量分析などの結果、Cab はペプチド中へ効率よく導入され、側鎖中のクロロア

セチル基は翻訳系中のコンポーネントと反応せずインタクトに存在できることがわかりました。一方で、Cab と Cys が同一のペプチド中にあった場合、分子内反応が進行しチオエーテル結合が形成されることがわかりました。驚くべきことにこの反応は翻訳反応をしている際に自発的に進行し、翻訳が終る頃には定量的に環状化されたペプチドのみが得られたのです。そこで次に、天然に存在する生理活性ペプチド「ウロテンシン」のジスルフィド結合を、上に述べた方法でチオエーテル結合に変換したペプチドを翻訳により合成してみました。このペプチドは、細胞内カルシウムを増大させるというウロテンシンの生理活性を保つ一方で、還元条件下におけるプロテアーゼへの耐性は著しく上昇していることがわかりました。このような特徴は、血中安定性の高い薬剤開発をおこなう上で極めて重要であると考えられます。今後は、本手法を用いて高多様環状化ペプチドライブラリーを構築し、様々な生理活性のあるペプチドをセクションしていきたいと考えています。

ここに述べたペプチドの合成法は、ペプチド学会に所属されている多くの方にはなじみの薄いものかもしれません。この文章を読んで、私たちの研究に少しでも興味を持ってくださる方がいらっしゃれば幸いです。最後になりましたが、今回の学会をお世話してくださった大阪大学の相本三郎先生、富山大学の小野慎先生をはじめ、お世話になりました皆様方に心よりお礼申し上げます。

さこ ゆうすけ
東京大学大学院工学系研究科化学生命工学
sako@cbl.rcast.u-tokyo.ac.jp

第44回ペプチド討論会を開催して

平成19年11月7日から9日、第44回ペプチド討論会を富山国際会議場で開催しました。この会は、富山大工学部の小野研究室と阪大蛋白研の相本研究室がそれぞれ役割を分担し、準備を致しました。会議場の確保、会場の設営、懇親会、富山市や県の助成金への対応を小野先生が受け持ち、ホームページの原稿、広報、協賛金や広告、展示の募集、参加登録や講演申し込み事務、予稿集やプロシーディングの作成を相本研が受け持ちました。

会場：小野先生がお勧めの富山国際会議場の下見に行って感激しました。ゆったりと座れるいす、威圧感のない舞台、会場の色調、ホワイエの広さとそこから眺めることのできるお城、しかも、信じられないほどの安い費用で借りることができるというのですから、一も二もなくここで開催しようということになりました。全館借り切りにすると便利です、という会議場の方の勧めで全館を3日間借り切ることになりました。参加者が少なかつたらどうしよう、と思いつつも、「広い方が便利です。」という太っ腹の小野先生のご意見に従いました。

開催時期：本年は10月21日から25日にケアンズで第4回国際ペプチドシンポジウム（第7回オーストラリアペプチド会議、第2回アジア太平洋ペプチドシンポ

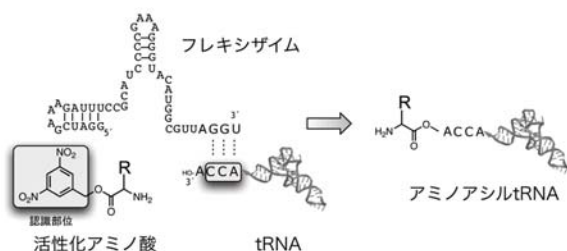


図1 RNA触媒「フレキシザイム」を用いた tRNA のアミノアシル化

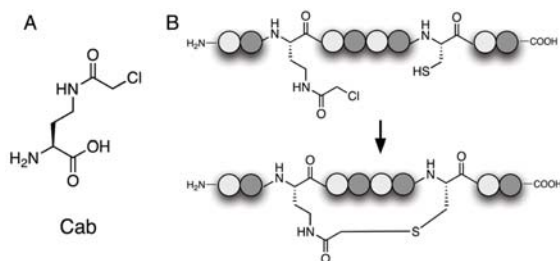


図2 (A) 非天然アミノ酸 Cab (B) Cab を用いたペプチドの環状化戦略



国際会議場前の富山城

ジウム)が開催され、その直前にはサテライトシンポジウムが10月17日から20日にかけて開催されることになっておりました。そのため、例年よりもペプチド討論会の開催時期を遅らざるをえませんでした。富山の天気は例年ですと文化の日を過ぎると、曇りまたは雨の多い日が続くそうです。昨年の11月7日から9日は正にそのような天気でした。直前に海外のリゾート地での国際学会、片や雨か曇りの富山での年会。「100人減は堅いやろなー。」と思いつつ、また一方で、「何とかなるやろ。」と励まし合いながら準備を進めました。

講演申し込み：8月31日を締め切り日として発表題目を募集しました。ほとんどの方が締切を守って申し込んで下さいました。発表区分ごとに申し込みを整理し、プログラム選考委員をお願いした小野愼(委員長)、赤路健一、興村桂子、川上徹、河野敬一、木村俊作、水口峰之、南方宏之、南野直人の各先生に口頭発表とポスター発表の申し込みの審査をしていただきました。外国出張中の先生からも一週間以内にお返事を頂き、すぐにプログラムの編成に取りかかることができました。申し込み講演数176件、韓国ペプチド学会からの招待講演2件と受賞講演2件を合わせると、総発表件数は180となり快調な出だしとなりました。10月上旬には予稿集が予定通りできあがりしました。

参加登録：10月1日締切の事前参加登録者数は、大阪で若宮先生のお世話で開催された時の約50人減でした。「新幹線沿線を離れると参加者が50人から100人くらいは減るのではないかと恐れつつ準備を始めましたので、「50人減ですみそうや！」と強がりを言いつつもやはり不安でした。しかし、その後参加者数は順調に増え続け、当日登録を加えると、450名となりました。また、国外からの参加者も27名で、韓国からは16名が参加されました。そのうち3名は大田科学高等学校の生徒さんでした。初めての高校生の参加で、彼らのパイオニア精神をたたえ、討論会実行委員会の名前で韓国に賞状を送りました。

口頭発表・ポスター発表：1) アミノ酸・ペプチドの化学、2) 生理活性ペプチドの単離・構造決定および合成、3) ペプチド合成の新規な戦略と方法論、4) ペプチドの構造-機能相関、5) ペプチドの医学・薬学的研究、6) ペプチドに関連したケミカルバイオロジー、7) ペプチドを用いる材料科学的研究、8)

その他という分類でプログラムを組みました。外国からの参加者から、非常にレベルが高く面白い発表が多いと、褒めていただきました。伝統的分野とともに新しい分野の研究に取り組んでいる方もたくさん参加し、成果を発表して下さいましたお陰だと思います。これから新しい分野の研究者がどんどん参加し、発表していただける討論会であらばと思います。また、英語での講演も次第に定着してきたように思います。無理なく英語発表の比率が上がっていくことを期待しております。

例年通りポスター賞のコンペを行いました。75件の参加があり、審査は大変でしたが、これはうれしい悲鳴といったところでしょうか。甲乙付けがたい接戦で、5名の予定が、結局、松下修門君(京大院農)、景山知佳さん(阪大院理)、川上隆史君(東大院工)渡辺健太郎君(京大院薬)、島田朋和君(東京理科大院薬)、板垣圭祐君(東京理科大院薬)、山口亮司君(京都薬大院薬)、佐古佑介君(東大院工)、松下千紘さん(阪大院理)の9名にポスター賞を授与することになりました。富山で一番おいしいと言われるお店のマス寿司を副賞としました。

韓国からは招待講演者として、Kil Lyong Kim 教授(Sungkyunkwan 大学)と Jaehoon Yu 教授(Seoul National 大学)が来られましたが、Yu 先生は富山空港の入管でトラブルが発生し、結局そのまま帰国されるという残念なことになってしまいました。なるべく早く招待できたらと思います。

総括：寒空の下で雨か曇りと覚悟していた天気が、



討論風景



ポスター賞受賞者の皆さん

3日間ともすばらしい秋晴でした。想定していた上限の数の方々に参加していただきました。呼びかけに応じて韓国からもたくさん参加していただきました。ありがたいことに、企業からの協賛、要旨集への広告掲載、19社の企業展示と大変なご支援を頂くことができました。また、aapptec社のSaneii社長は、430個の靴を送っていただきました。懇親会も隣の会場の予約がドタキャンになったお陰で、希望者全員を受け入れることができ、楽しんでいただくことができました。小野先生人脈の地元の造り酒屋さんのお陰で、よそでは飲めない富山の銘酒を楽しむこともできました。富山市コンベンション開催事業補助金と(財)富山県高等教育振興財団助成金は心強い財政的支援となりました。

現在、プロシーディング原稿の査読をお願いし、3月上旬には発行できるよう努力を続けているところです。

最後になりましたが、和文・英文のホームページ原稿の作成から始まり、企業とのやりとり、発表ならびに参加申し込みの受付と整理、学会当日の準備という激務をほとんど一人で処理して下さいました相本研秘書の川口真理さんに心より感謝いたします。また、会場での受付業務に携わって下さった興村桂子さん(北陸大学)ならびに富山大学工学部と薬学部の院生・学生諸君、会場内の世話をいただいた阪大蛋白研の院生・学生諸君の献身的協力、そして討論会に参加して下さいましたすべての方々に感謝し、拙文を終わらせていただきます。

来年、野水基義先生のお世話で開催される第45回ベプチド討論会の成功を心よりお祈りしております。

あいもと さぶろう
大阪大学蛋白質研究所
e-mail: aimoto@protein.osaka-u.ac.jp

真夏の Merry X'mas & Happy New Year

一年を通して暑いか涼しいという、季節感がほとんど無いオーストラリア・クイーンズランド州・ブリスベンから、「新年明けましておめでとうございます」。

この度、三原久和先生(東京工業大学)より海外留学と学会報告を併せた執筆依頼を受け、まだまだ若輩者ではありますが、謹んで務めさせていただきます。

私は神戸学院大学博士課程中(岡田芳男研究室)、Prof. Istvan Toth(The University of Queensland)の研究室へ短期留学をさせて頂きました。それをきっかけに、Prof. Tothからオファーを頂き、卒業後ブリスベンに住み着いてから、早いものでもうすぐ3年目を迎えようとしています。

ここブリスベンには人口95万人(広域都市圏を含めると180万人)のクイーンズランド州都で、シドニー、メルボルンに次ぐオーストラリア第三の都市です。治



藤田 快男

安は非常に良く、生活はノンビリしています。緯度は沖縄と同じくらいにあるので、気候は一年を通してかなり過ごし易く、冬(6-8月)にはジャケットを1枚羽織ればOK。冬でも、半パン・ビーサンなんて格好を見かける事も珍しくありません。じゃあ、そんな人はブリスベンの夏をどう過ごすのか? 半裸です。ビーチ近郊でもないのに、裸足・半裸で半パンのみ。誤解の無いように付け加えますが、一部の男です。実際、夏(12-2月)は日差しが照り付けるように強いですが、あの日本のジメジメとした湿気は無いので、比較的過ごしやすいです。『湿気が無い・少ない』事は決していい事ではなく、近年クイーンズランド州は深刻な水不足に悩んでいます。根本的に降雨量減少が原因のため、ダムを造っても解決しません。驚くなかれ、水道水は処理した下水。政府は『大丈夫』といっているが、全くいい気はしません。大学内の幾つかの食堂では、節水のため使い捨てのプラスチック容器を大量に使用しています。『これはこれで環境汚染を進めているんじゃない? リサイクルしてんの?』と思いつつも、選択肢がないので、つつい使ってしまう。

ブリスベンはメルボルンやシドニーと比べるとアジア系(特に東アジア)の移民が多く、アメリカに比べ物価が安い事(最近是中国経済バブルの崩れ、更には原油価格高騰の影響を受けて、インフレの真っ只中)や近い事もあり、東アジアからの留学生が多くいます。更にNYのテロの後、イスラム圏からの留学生も年々増えてきています。

現在、Tothグループは16人中オーストラリア人がたったの2人。過去一年間に在籍した、若しくは現在在籍している方々は、アジア(中国、台湾、マレーシア、インド、パキスタン)、中東・北アフリカ(オマーン、エジプト)、北南米(カナダ、アメリカ、コロンビア)、ヨーロッパ(イタリア、フランス、チェコ、オーストリア)、オセアニア(ニューカレドニア)からと、かなりマルチカルチャーなグループに仕上がっています(ちなみにボスはハンガリー出身)。研究室の中にコーランが流れている事もしばしばありました。英語のレベルはまちまちで、ほとんど片言の人も時々います。私も英語が得意ではありませんでしたが、メンバーが優しく、語学の難しさを知っているので、『理解してあげる』『理解できるように優しく教える』環境で仕事を始めることができたのは、非常にラッキーだと思います。

さて『学会報告するは我にあり』という事で、地元(?) Australiaで開催されたModern SPPS & Its Applications(ポートダグラス, 10/17-20)と4th International, 2nd Asia-Pacific International & 7th Australian Peptide Symposium(ケアンズ, 10/21-25)の2つの学会に参加して来ました。Prof. Ian Smith(Monash University)並びにProf. John Wade(University of Melbourne)がchairを務められました。

ケアンズは、クイーンズランド州二番目に大きな都市(人口13万)で、グレート・バリア・リーフへの玄関口であり、飛行機に乗って寝て起きたら到着。時差はたったの1時間。これは日本から海外の学会に参加するにはかなり好条件(Jet Starには皆さんご立腹の

ご様子でしたが…) と思いきや、日本・韓国・中国からの参加者が意外にも少ない事にちょっと驚きました。

私はサテライト・ミーティングに参加するのは今回が初めてでした。大きい国際学会は発表数は多いが、逆に物足りなさを感じる事が度々あったのですが、サテライト・ミーティングは研究分野がより絞られていて、非常に意義のあり満足度の高いものでした。また参加者がそれほど多くはなかったのも良かったと思います。中でも Prof. Wade から「前回日本で開催された 43rd Japanese Peptide Symposium & 4th Peptide Engineering Meeting に参加した際に、サテライト・ミーティングにも参加し、非常に感銘を受けたので、今回の学会運営に力を入れた。どう？楽しんでる？」と気さくにお声をかけて頂きました。

そのサテライト・ミーティングは、Prof. Tam (Singapore) による SPPS の歴史・問題点・改善点に関する講義で始まり、講演内容は結合試薬、樹脂、水中固相合成、Chemical Ligation、コンビナトリアル・マニファクチャリング、最後は電子レンジでチン！(最近はお決まりのパターンになっているような気が…) と非常にバラエティーに富んでいました。特に印象に残ったのは、Prof. Tam が紹介した昔の Prof. Merrifield の写真。彼の後ろに写っていた全自動合成機は、例えるなら、B 級 SF 映画に出てくるような巨大な機械、若しくは潜水艦の一室。それが改良に改良を重ね、更には新しいマイクロウェーブ技術を備え、今やあんなにコンパクトでハンディーに。あのマイクロウェーブ・ペプチド全自動合成機に SPPS の歴史40年間の偉大な研究者達の努力・貢献・技術進歩の象徴を改めて垣間見る事が出来たんじゃないかと思います。

次回の 5th International Peptide Symposium (IPS) は京都で開催される予定で、温室育ちのオーストラリア人(特にブリスベン出身)が京都の初冬をどう感じるか、個人的に非常に興味深いところです。

最後になりましたが、今後の日本ペプチド学会のますますのご発展と IPS のご成功を切に祈念します。



Toth-group members

ふじた よしお
University of Queensland
School of Molecular and Microbial Sciences
y.fujita@uq.edu.au

4th International Peptide Symposium の参加報告



大橋 南美



山縣 夏美

4th International Peptide Symposium (4th IPS) が、去る2007年10月21～25日、オーストラリア・ケアンズにある Cairns Convention Centre にて開催されました。本シンポジウムの chair は、Melbourne University John Wade 先生と Monash University Ian Smith 先生が務められました。シンポジウムの開催地であるケアンズは、オーストラリア・クイーンズランド州に属し、南緯約17度、経度約145度にあり、オーストラリアの北東に位置します。気候は熱帯雨林気候となり、会期中は約27℃と常夏ではありますが、朝晩は15℃を下回り肌寒く感じることもありました。南半球に位置するため、日本とは季節が逆になり、私達が訪れた10月下旬は乾季で、紫外線に乾燥という女性の肌には大変厳しい気候でした。ケアンズは、人口約13万人と小さな街ですが、グレートバリアリーフと熱帯雨林という、2つの世界遺産への玄関口として世界的に有名なりゾート地です。グレートバリアリーフは、南北2,000km に及ぶ大小700あまりの島々を囲むように珊瑚礁が連なっており、約400種の珊瑚、約1,500種の魚、約240種の鳥が生息しています。多くの観光客が、リゾート、クルージング、ダイビングの為に島々を訪れます。また、もう1つの世界遺産である熱帯雨林は、世界最古といわれ、はるか1億年以上も昔から変わらない姿をしています。本シンポジウムでは24日の午後がフリーだったので、私達はこの熱帯雨林に囲まれたキュランダ村を訪れました。キュランダ村へは、『世界の車窓から』でも取り上げられた列車、またはスカイレールと呼ばれるロープウェイを利用して訪れることができます。7.5km に及ぶスカイレールに乗れば熱帯雨林を上から一望することができ、その圧倒的



Chair の Smith 先生と筆者ら

な大自然を直に感じることができます。普段研究室にいる私達にとっては、とても開放的で素敵な時間を過ごすことができました。

シンポジウムは、7th Australian Peptide Symposium と2nd Asia-Pacific International Peptide Symposiumとの共同開催であったため、アジアを初め多くの国から参加者が集い、口頭発表・ポスター発表が行われました。口頭発表のセッショントピックスは、1) Protein Misfolding & Disease 2) Peptidomimetics & Drug Design 3) New Developments in Peptide Drug Delivery 4) Chemical Peptide Synthesis: Innovations & Applications 5) Peptidomics: Towards Therapeutics 6) Peptides-to-Clinic 7) Clinical Proteomics 8) Toxins and Targets: New Therapeutic and GMO Leads 9) Molecular Interactions-Exploring Affinity & Specialty 10) Emerging Technologies for Studying Peptide Structure & Function 11) New Concepts in Bioactive Peptide Design 12) Peptidomics: Biomarker Analysis and Characterization 13) Peptide & Protein Engineering 14) Peptides as Drugs in Infectious Diseases 15) Neuropeptides & Painの15テーマに分かれており、途中 Morning Tea やランチを挟みながら 8:30から17:30まで盛況に発表が行われました。

以下は、2人でシンポジウムの印象について振り返った時の会話です。

山縣「今回のシンポジウムのテーマが『Discovery to Drugs: The Peptide Pipeline』ということで、どの発表も医療に関連していて興味深かったね。」

大橋「うん。いろんな切り口からペプチド創薬を捉えていてすごくおもしろかった。中でもどの発表が印象的だった？」

山縣「私は、活性ペプチドを足場に固定化して、タンパクの機能を模倣するという研究を行っているから、特に Utrecht University の Liskamp 先生の発表が印象に残っているよ。ペプチドと合成 scaffold を用いてタンパク中のエピトープを模倣するという内容だったんだけど、実験手法や、合成ワクチン・抗体への医療応用などが勉強になったよ。南美ちゃんは？」

大橋「私は、実験の手法の一つとして ligation 使っているから、例えば、横浜市立大学の梶原先生の糖鎖をもつペプチドの合成についての発表

や、Rockefeller University の Muir 先生の 3 fragment ligation を用いているお話はとても印象的だったよ。あともう一つ、Ludwig Institute for Cancer Research の Nice 先生の発表はかなりインパクトがあったかな。」

山縣「分野外の発表はなれない単語がいっぱいでてきて難しかったけど、会場のあのリラックスした雰囲気はとても良かったね。」

大橋「うん。しかも皆すごくカジュアルで、ポスター会場でも半ズボン・サンダルの人が、飲み物片手に説明したり質問したりして、とても話しやすい雰囲気だったね。」

山縣「そうそう。日本の学会とは違って、これが国際学会かあって感じだったよね。それで発表はどうだった？」

大橋「ポスターで、リン酸化酵素のリガンド結合ドメインの化学合成と大腸菌による発現についての発表したのだけど、実験の方法やバックグラウンドについてかなり細かく質問をもらったよ。もちろん英語にもかなり苦労したよ。」

山縣「私も、英語での説明や質疑応答が本当に難しかった。メモと電子辞書は欠かせなかったね。」

大橋「確かに。でも、これからの課題が多く見つかったし、得られるものはとても大きかったと思う。なっちゃんの発表はどんな感じだった？」

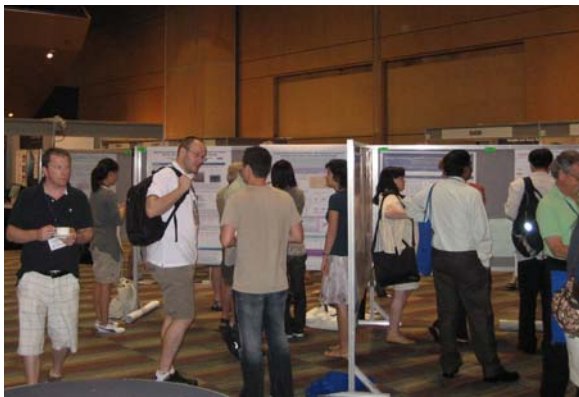
山縣「私は『Peptide mosaic chitosan membranes promote diverse biological functions』というタイトルで発表したんだけど、高分子膜にキトサンを用いているので、コラーゲン膜の研究を行っている人から相違点について質問されたり、写真について説明を求められたよ。自分の実験に対してアドバイスや意見をもらえたので、とても勉強になったよ。本当に貴重な経験ができたと思う。」

大橋「そうだね、4th IPS では、様々な国々から集まったペプチドという共通点を持つ人々がその研究について発表や意見交換を行う場の雰囲気や開催地ケアンズの風など様々なものを肌で感じることができたよね。そのなかでも特に強く感じたのは自分の未熟さで、いろいろな人達との討論から、自分の研究のバックグラウンドに対する知識の無さ、勉強不足、そして英会話とプレゼンのレベルの低さを痛感したよ。この貴重な体験はこれからの研究に大きな励みとなるだろうし、日々努力しなければと思ったよ。」

この会話から、シンポジウムの雰囲気が伝わったでしょうか？

私達がポスター発表を終えた学会最終日の夜は、会場の外で Farewell Dinner が開かれました。バンドの演奏が流れる中、オーギービーフやオーストラリア産ワインなどを頂きながら、多くの研究者の方とお話することができ、刺激的な時間を過ごすことができました。また普段はお会いする機会の少ない日本の学生の皆様とも交流を深めることができ、大変楽しい夜となりました。

この記事を読んでくださっている、特に学生の方々



ポスター会場の様子



Farewell Dinner にて

に、このようなシンポジウムや討論会にどんどん参加する事を強くお勧めしたいと思います。“実際に行ってみて、そして意見交換をする“その経験は何事にも代えがたく、そして確実に自分の身つくものだと、今この記事を書きながら感じるからです。次回の IPS は 2010年に京都で、アジア太平洋ペプチドシンポジウムは韓国でそれぞれ開催されます。また新しいそして活発な議論がなされることと思います。最後になりましたが、今回のシンポジウムへの参加は日本ペプチド学会若手研究者参加支援事業の助成によるもので、学会役員および選考委員会の先生方にこころより厚く御礼申し上げます。

おおはし なみ
東京医科歯科大学学生体材料工学研究所
分子認識分野・修士 2 年
ohashi.mr@tmd.ac.jp
やまがた なつみ
東京薬科大学大学院薬学研究科薬学専攻
病態生化学教室 修士 2 年
y024192@educ.ps.toyaku.ac.jp

第11回韓国ペプチドシンポジウム参加報告

第11回韓国ペプチドシンポジウム (11th Korean Peptide Symposium “Peptides and Beyond”) が、11月30日にソウル市の新村地区にある西江大学で行われた。新村地区には4つの大学（西江大学、延世大学、梨花女子大学、国民大学）があり、若者の街として賑わっている。本シンポジウムには、韓国からの参加者は約150人であった。また、米国から Kit S. Lam 教授 (UC Davis 大)、イタリアから Fernando Formaggio 教授 (Padova 大)、中国から Xiaojun Zhao 教授 (四川大學)、日本からは三原先生 (東工大) と私の5人が招待された他、日本から藤井郁雄先生 (大阪府立大学)、東工大・三原研大学院生2人、東薬大・野水研大学院生2人の計5人が参加した。

シンポジウムは11月30日・12月1日で行われ、最初



野水 基義



本学会の主催者の Oh 先生 (中央), Shin 先生 (延世大) と三原先生 (東工大)

に、7人の若手（日本人大学院生1人を含む）による英語でのショートプレゼンテーションがあった。そのあとの5人の外国からの招待者と8人の韓国人の発表が英語で行われ、活発な討論があった。また、ポスターは43演題もの発表があり活発なディスカッションが行われていた。



参加した先生方の集合写真



シンポジウムの前日に行われた Welcome party の様子



韓国ペプチド学会会長の Hahm 先生 (Chosun 大) と藤井郁雄先生 (大阪府大)



ポスター会場の様子



シンポジウムの最後に行われた表彰式の様子。日本からの大学院生も 1 人表彰された



日本人大学院生も頑張ってポスター発表を行っていた

来年は、第12回韓国ペプチドシンポジウムが今回と同じくソウル市の新村地区の国民大学で行われる予定で、2009年には第3回アジア・パンパシフィックペプチドシンポジウム・第13回韓国ペプチドシンポジウムが済州島で開催される予定である。皆様もお隣の国・韓国のペプチドシンポジウムに参加されてはいかがでしょうか。

のみず もとよし
東京薬科大学薬学部
nomizu@ps.toyaku.ac.jp

学会からのお知らせ

1. 2011年から2013年のペプチド討論会世話人の募集

2011年 第48回、2012年 第49回、2013年 第50回のペプチド討論会の世話人を募集します。質問がありましたら庶務担当理事(相本、aimoto@protein.osaka-u.ac.jp)までご連絡下さい。本年7月に世話人を決定する予定です。詳しくは、学会ホームページをご覧ください。

2. トラベルアワードの募集

平成20年8月31日～9月5日に開催される第30回 European Peptide Symposium (ヘルシンキ) へのトラベルアワードの募集をします。締切日を4月上旬とし、募集人員5名程度で5万円授与の予定です。詳しくは、学会ホームページをご覧ください。

3. 日本ペプチド学会奨励賞候補者の推薦依頼

6月上旬を締切日とし、奨励賞候補者の推薦を受け付けます。詳しくは、学会ホームページをご覧ください。

4. Akabori Memorial Award 候補者の推薦依頼

締切日など詳しくは学会ホームページをご覧ください。

PEPTIDE NEWSLETTER JAPAN

編集・発行：日本ペプチド学会
〒562-8686 箕面市稲4-1-2
(有)千里インターナショナル内

編集委員

三原 久和 (担当理事)
(東京工業大学大学院生命理工学研究科)
TEL 045-924-5756, FAX 045-924-5833
e-mail: hmihara@bio.titech.ac.jp
坂口 和靖 (北海道大学大学院理学院)
TEL 011-706-2698, FAX 011-706-4683
e-mail: kazuyasu@sci.hokudai.ac.jp
玉村 啓和 (東京医科歯科大学生体材料工学研究所)
TEL 03-5280-8036, FAX 03-5280-8039
e-mail: tamamura.mr@tmd.ac.jp
前田 衣織 (九州工業大学情報工学部)
TEL 0948-29-7830, FAX 0948-29-7801
e-mail: iori@bse.kyutech.ac.jp
北條 裕信 (東海大学工学部)
TEL 0463-58-1211 (代), FAX 0463-50-2075
e-mail: hojo@keyaki.cc.u-tokai.ac.jp

(本号編集担当：坂口 和靖)